

## **CAMPUS VÉTÉRIINAIRE DE LYON**

Année 2022 - Thèse n°013

# **IMPACT DE LA SANTÉ EN RECHERCHE COMPORTEMENTALE ET COGNITIVE : FOCUS SUR LES ORGANISMES AQUATIQUES**

## **THÈSE**

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1  
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 24 juin 2022  
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

Tomasek Maëlan



## **CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON**

Année 2022 - Thèse n°013

# **IMPACT DE LA SANTÉ EN RECHERCHE COMPORTEMENTALE ET COGNITIVE : FOCUS SUR LES ORGANISMES AQUATIQUES**

## **THÈSE**

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1  
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 24 juin 2022  
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

Tomasek Maëlan



## Liste des enseignants du Campus vétérinaire de Lyon (26/10/2022)

Mme	ABITBOL	Marie	Professeur
M.	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Maître de conférences
Mme	ARCANGIOLI	Marie-Anne	Professeur
Mme	AYRAL	Florence	Maître de conférences
Mme	BECKER	Claire	Maître de conférences
Mme	BELLUCO	Sara	Maître de conférences
Mme	BENAMOU-SMITH	Agnès	Maître de conférences
M.	BENOIT	Etienne	Professeur
M.	BERNY	Philippe	Professeur
Mme	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Professeur
M.	BOURGOIN	Gilles	Maître de conférences
M.	BRUTO	Maxime	Maître de conférences Stagiaire
M.	BRUYERE	Pierre	Maître de conférences
M.	BUFF	Samuel	Professeur
M.	BURONFOSSE	Thierry	Professeur
M.	CACHON	Thibaut	Maître de conférences
M.	CADORÉ	Jean-Luc	Professeur
Mme	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Professeur
M.	CHABANNE	Luc	Professeur
Mme	CHALVET-MONFRAY	Karine	Professeur
M.	CHAMEL	Gabriel	Maître de conférences
M.	CHETOT	Thomas	Maître de conférences Stagiaire
Mme	DE BOYER DES ROCHES	Alice	Maître de conférences
Mme	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Professeur
Mme	DJELOUADJI	Zorée	Professeur
Mme	ESCRIOU	Catherine	Maître de conférences
M.	FRIKHA	Mohamed-Ridha	Maître de conférences
M.	GALIA	Wessam	Maître de conférences
M.	GILLET	Benoit	AERC
Mme	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Professeur
M.	GONTHIER	Alain	Maître de conférences
Mme	GREZEL	Delphine	Maître de conférences
Mme	HUGONNARD	Marine	Maître de conférences
Mme	JOSSON-SCHRAMME	Anne	Chargé d'enseignement contractuel
M.	JUNOT	Stéphane	Professeur
M.	KODJO	Angeli	Professeur
Mme	KRAFFT	Emilie	Maître de conférences
Mme	LAABERKI	Maria-Halima	Maître de conférences
Mme	LAMBERT	Véronique	Maître de conférences
Mme	LE GRAND	Dominique	Professeur
Mme	LEBLOND	Agnès	Professeur
Mme	LEDOUX	Dorothee	Maître de conférences
M.	LEFEBVRE	Sébastien	Maître de conférences
Mme	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Maître de conférences
M.	LEGROS	Vincent	Maître de conférences
M.	LEPAGE	Olivier	Professeur
Mme	LOUZIER	Vanessa	Professeur
M.	LURIER	Thibaut	Maître de conférences Stagiaire
M.	MAGNIN	Mathieu	Maître de conférences Stagiaire
M.	MARCHAL	Thierry	Professeur
Mme	MOSCA	Marion	Maître de conférences
M.	MOUNIER	Luc	Professeur
Mme	PEROZ	Carole	Maître de conférences
M.	PIN	Didier	Professeur
Mme	PONCE	Frédérique	Professeur
Mme	PORTIER	Karine	Professeur
Mme	POUZOT-NEVORET	Céline	Maître de conférences
Mme	PROUILLAC	Caroline	Professeur
Mme	REMY	Denise	Professeur
Mme	RENE MARTELLET	Magalie	Maître de conférences
M.	ROGER	Thierry	Professeur
M.	SAWAYA	Serge	Maître de conférences
M.	SCHRAMME	Michael	Professeur
Mme	SERGENTET	Delphine	Professeur
M.	TORTEREAU	Antonin	Maître de conférences

Mme  
M.  
Mme  
M.

VICTONI  
VIGUIER  
VIRIEUX-WATRELOT  
ZENNER

Tatiana  
Eric  
Dorothée  
Lionel

Maître de conférences  
Professeur  
Chargé d'enseignement contractuel  
Professeur

## Remerciements du jury

***À Madame le Professeur Elvire SERVIEN,***

de la faculté de Médecine de Lyon

Merci de me faire l'honneur de présider cette thèse. J'espère que votre intérêt pour le bien-être du poulpe sera satisfait par ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de mes hommages respectueux.

***À Madame Delphine GRÉZEL,***

de VetAgro Sup, campus vétérinaire de Lyon

Merci énormément pour votre gentillesse, votre intérêt et votre réactivité, que je sois à Lyon ou à l'autre bout du monde. Cela a été un réel plaisir et honneur de travailler avec vous. Veuillez trouver ici l'expression de ma plus profonde gratitude.

***À Monsieur Samuel VIDAL,***

de VetAgro Sup, campus vétérinaire de Lyon

Merci beaucoup d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse et de m'avoir montré lors de vos cours l'importance du vétérinaire de laboratoire. Veuillez trouver ici l'expression de mon plus sincère respect.



# Remerciements

***À tous les scientifiques ayant accepté de participer à ce projet,***

Merci d'avoir partagé vos expériences. Merci d'avoir avivé mon désir de plonger dans l'univers des animaux aquatiques et d'en faire mon métier.



# Table des matières

Remerciements du jury	5
Remerciements	7
Table des matières	9
Table des annexes	13
Table des figures	15
Table des tableaux	17
Liste des abréviations	19
Introduction	21
I. Pourquoi et comment s'assurer de la santé des espèces aquatiques utilisées à des fins scientifiques ?	25
1. Principes directeurs de l'utilisation des animaux en recherche	25
2. Pourquoi s'assurer de la santé des espèces aquatiques en laboratoire ?	26
a. Enjeu éthique	26
b. Enjeu de validité expérimentale	27
c. Enjeu réglementaire	31
3. Comment s'assurer de la santé des espèces aquatiques utilisées en recherche ?	32
a. Évaluation des animaux et de leur environnement	32
i. Évaluation de l'environnement	32
ii. Évaluation des animaux	33
b. Focus sur le stress	36
i. Impact du stress sur la santé et la validité expérimentale	36
ii. Évaluation du stress	37
iii. Amélioration des pratiques via l'étude du stress	38
c. Recommandations pratiques	39
4. Limites majeures de la santé des espèces aquatiques en laboratoire	40
a. Manque de connaissances général	40
b. Diversité des espèces en laboratoire	46
II. Gestion de la santé des espèces aquatiques en laboratoire en pratique : interviews avec des professionnels européens	49
1. Introduction	49
2. Matériel et méthodes	50
3. Rôles et responsabilités de chacun des acteurs	52
	9

a.	Informations préalables : rôles possibles de chacun des acteurs	52
i.	Chercheurs	52
ii.	Vétérinaires	52
iii.	Soigneurs et techniciens	54
b.	Présentation des structures et des interviewés	54
c.	Place et vision du vétérinaire au sein des structures	57
d.	Discussion	58
4.	Santé et validité expérimentale en éthologie et cognition	58
a.	Paramètres influençant le comportement	58
b.	Maximisation de la validité expérimentale	60
c.	Perspectives futures	61
d.	Discussion	61
5.	Santé des espèces aquatiques en laboratoire	62
a.	Problèmes de santé les plus courants	62
b.	Détection des problèmes de santé	65
c.	Gestion des problèmes de santé	65
d.	Discussion	67
6.	Législation	69
a.	Résultats	69
b.	Discussion	71
7.	Connaissances en santé et bien-être des espèces aquatiques	71
a.	État des connaissances	71
b.	Acquisition des connaissances	72
i.	Formation et expériences	72
ii.	Littérature	74
iii.	Échanges entre professionnels	74
c.	Discussion	75
8.	Perceptions des animaux aquatiques	77
a.	Perception sociétale des organismes aquatiques	77
b.	Valeur de l'animal aquatique de laboratoire	78
c.	Recherche et aquaculture	78
d.	Discussion	79
	Conclusion	811

Bibliographie	833
Annexes	95



## Table des annexes

Annexe 1 : Paramètres physico-chimiques de l'eau pour différentes espèces.....	96
Annexe 2 : Fiche d'examen clinique individuel pour les espèces aquatiques.....	98
Annexe 3 : Tableau de suivi d'élevage du laboratoire de Konstanz, Allemagne.....	102
Annexe 4 : Guide pour les interviews avec les chercheurs (francophone).....	103
Annexe 5 : Guide pour les interviews avec les vétérinaires (francophone).....	106
Annexe 6 : Guide pour les interviews avec les soigneurs animaliers et techniciens (francophone).....	109
Annexe 7 : Cas clinique, inversion aigüe de flottabilité chez un cichlidé mâle adulte <i>Lamprologus ornatipinnis</i> .....	111



# Table des figures

Figure 1 : Principes des cinq libertés fondamentales et des 3R.....	26
Figure 2 : Principe des 3V.....	28
Figure 3 : Enrichissement pour des cichlidés <i>Neolamprologus multifasciatus</i> .....	29
Figure 4 : Apprentissage associatif chez un mâle <i>Neolamprologus ocellatus</i> .....	35
Figure 5 : Mécanisme de recherche de connaissances appliqué aux espèces aquatiques .....	41
Figure 6 : Évolution des connaissances pour les poissons.....	43
Figure 7 : Évolution des connaissances pour les céphalopodes.....	44
Figure 8 : Évolution des connaissances pour les décapodes.....	45
Figure 9 : Utilisation des espèces aquatiques en recherche en Union Européenne en 2018...47	
Figure 10 : Missions des professionnels en contact avec les animaux aquatiques au sein des structures des interviewés.....	54-56
Figure 11 : Missions des vétérinaires indépendants.....	56
Figure 12 : Réponses spontanées des paramètres influençant le comportement des espèces aquatiques utilisées à des fins scientifiques.....	59
Figure 13 : Illustration d'une méthode de limitation du stress chez une seiche commune <i>Sepia officinalis</i> .....	61
Figure 14 : Deux exemples d'hébergements de poissons dans des laboratoires.....	68
Figure 15 : Mécanismes d'acquisition de connaissances lorsqu'un professionnel se retrouve face à une espèce aquatique inédite ou un problème qu'il n'a jamais rencontré auparavant.....	76



# Table des tableaux

Tableau I : Professionnels de laboratoires travaillant avec des espèces aquatiques interviewés dans le cadre de cette thèse.....	51
Tableau II : Rôles des vétérinaires désignés d'un laboratoire de recherche animale.....	53
Tableau III : Affections rencontrées dans les laboratoires et par les vétérinaires interrogés....	64
Tableau IV : Gestion des problèmes de santé par les professionnels interrogés.....	66
Tableau V : Formations initiales, parcours professionnels, formations continues et expériences personnelles des professionnels interviewés.....	73



# Liste des abréviations

AAALAC : Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care (Association pour l'évaluation et l'accréditation des soins aux animaux utilisés à des fins scientifiques)

ALURES : AnimAL Use Reporting – EU System (Système Européen de Rapport des Utilisations Animales)

ARRIVE : Animal Research: Reporting of *In Vivo* Experiments, Rapport d'Expérimentations *In Vivo* en Recherche Animale (du Sert *et al.*, 2020)

CephRes : Cephalopods in Research (Céphalopodes en Recherche)

CHH : Crustacean Hyperglycemic Hormone (Hormone Hyperglycémique des Crustacés)

COST : European COoperation in Science and Technology (Coopération européenne en Sciences et Technologies)

CPD : Continuous Professional Development (Développement Professionnel Continu)

DDCSPP : Direction Départementale en charge de la Cohésion Sociale et de la Protection des Populations

EFOR : Réseau d'Études Fonctionnelles chez les Organismes modèles

EuFishBioMed : European society of Fish models in Biology and Medicine (Société Européenne des Modèles Poissons en Biologie et en Médecine)

FELASA : Federation of European Laboratory Animal Science Associations (Fédération Européenne des Associations de Science des Animaux de Laboratoire)

NE : non évalué(e)

NR : non réalisé(e)

OIE : Organisation mondiale de la santé animale (anciennement Office International des Épizooties)

SBEA : Structure chargée du Bien-Être Animal

STRANGE : Social background, Trappability and self-selection, Rearing history, Acclimation and habituation, Natural changes in responsiveness, Genetic make-up, Experience (Webster & Rutz, 2020 ; Rutz & Webster, 2021)



# Introduction

« Qui entend les poissons quand ils pleurent ? »  
Henry David Thoreau (1839)

L'éthologie et la cognition animale sont des domaines de recherche qui se sont développés assez tardivement en biologie : même si Aristote s'y intéressait déjà, l'étude du comportement des animaux est devenue une science à part entière au cours du XX<sup>ème</sup> siècle, les relations entre les hommes et les animaux devenant un sujet de société préoccupant sur les plans éthique et économique (Vilmer, 2008). L'éthologie correspond à l'étude générale du comportement des animaux. La cognition est un domaine de l'éthologie qui s'est développé plus tardivement et qui explore les mécanismes mentaux à l'origine des comportements. Il s'agit d'un champ de recherche à la croisée de plusieurs domaines dont les neurosciences, la psychologie comparée ou l'écologie (Darmaillacq & Dickel, 2018). Comme bon nombre de concepts biologiques, une définition précise et exacte n'existe pas (Bayne *et al.*, 2019). Nous avons utilisé ici comme définition de la cognition l'étude des "mécanismes par lesquels les animaux acquièrent, traitent, stockent, et agissent sur les informations provenant de l'environnement" (Shettleworth, 2010).

Étant donnée la diversité des modes de vie selon les espèces, les chercheurs en cognition animale se sont attachés à tester un large spectre de taxons, à la fois d'un point de vue neurophysiologique et d'un point de vue comportemental, pour analyser l'étendue des capacités cognitives du règne animal (Bräuer *et al.*, 2020). D'abord primato-centrée, la recherche en cognition s'est ouverte ensuite aux oiseaux et maintenant à une large diversité d'espèces, dont un intérêt récent envers les espèces aquatiques (Brown, 2015 ; Schnell & Clayton, 2021). On estime à 8,7 millions le nombre d'espèces sur la planète, et 2,2 millions d'entre elles sont des espèces marines ; 91% de ces espèces marines ne sont pas encore décrites (Mora *et al.*, 2011). Il reste ainsi beaucoup de chemin à parcourir pour avoir une idée de la diversité (ou de la non-diversité) des mécanismes cognitifs de ces espèces aquatiques (Bshary, Wickler & Fricke, 2002).

Bien que l'approche classique en éthologie consiste en l'étude des animaux dans leur milieu naturel, de nombreuses raisons scientifiques et pragmatiques ont conduit au développement d'études en milieu artificiel, avec des animaux domestiques ou sauvages, élevés et détenus en captivité. De nombreuses capacités cognitives peuvent ainsi être investiguées chez les poissons dans des modèles caractérisés : capacités mathématiques, navigation dans l'environnement, apprentissage social, utilisation d'outils, innovations... La capacité de réaliser des soustractions et des additions simples a par exemple été récemment montrée chez des poissons cichlidés *Pseudotropheus zebra* et des raies *Potamotrygon motoro* (Schluessel *et al.*, 2022).

En 2018, les poissons étaient déjà à la deuxième place du classement des espèces les plus utilisées en recherche, notamment en génétique et écotoxicologie, représentant plus de 25% des animaux utilisés en expérimentation animale. Le poisson-zèbre *Danio rerio* est par exemple un modèle important en recherche biomédicale (Kalueff, Stewart and Gerlai, 2014 ; Stewart *et al.*, 2014 ; Commission Européenne, 2021). Les espèces aquatiques représentent ainsi des modèles d'avenir. La santé des animaux utilisés en recherche répond à un triple enjeu d'éthique, de validité expérimentale et de respect de la législation. Les attentes sociétales contemporaines autant que les enjeux de qualité de la recherche ont profondément modifié le recours aux animaux de laboratoire en plaçant le respect du bien-être animal comme une responsabilité éthique et un devoir légal. Les conditions d'hébergement, d'entretien et d'utilisation des animaux utilisés à des fins scientifiques sont encadrées par un important dispositif réglementaire et éthique (Directive Européenne 2010/63), et reposent sur des professionnels aux compétences variées, dont des vétérinaires chargés de conseiller sur le bien-être des animaux en amont et au cours des projets (Poirier *et al.*, 2015). Pourtant, alors qu'il y a des enjeux majeurs relatifs à l'aquaculture et à la protection de la biodiversité, les connaissances en santé des espèces aquatiques sont moins développées que pour d'autres taxons, et peu de vétérinaires sont capables de prendre en charge ces espèces, ces dernières étant même bien souvent totalement écartées de la formation initiale (Direction générale de l'enseignement et de la recherche, 2017). Les professionnels travaillant avec ces animaux dans les laboratoires de recherche sont ainsi soumis à des obligations législatives en matière de santé et de bien-être chez ces espèces, malgré un déficit de connaissances et de recommandations.

« Happy animals make good science » est le moto de la recherche animale contemporaine (Poole, 1997). Il paraît évident qu'un animal en mauvaise santé présentera une physiologie perturbée, ne se comportera pas normalement ou aura des capacités cognitives diminuées ou modifiées. Néanmoins, concevoir un hébergement artificiel et des conditions d'entretien et d'utilisation adaptés aux espèces aquatiques représente un défi considérable, parfois sous-estimé et sous-valorisé dans l'activité des équipes de recherche. Peu d'études se sont attachées à apporter des preuves de l'effet des conditions environnementales sur la recherche en cognition animale, au-delà des rongeurs, et à fournir des recommandations adaptées aux espèces aquatiques.

Notre objectif par ce travail, inspiré par plusieurs mois de stages dans différents centres de recherche en cognition, a donc été de contribuer à l'amélioration des conditions de vie et d'utilisation des espèces aquatiques dans les études comportementales et cognitives. Nous nous sommes principalement intéressés aux poissons, mais aussi aux céphalopodes et aux décapodes qui étaient dominants dans nos structures d'intérêt (cette limite justifiant de ne pas prendre en compte les amphibiens ou autres espèces à habitat aquatique exclusif). Nous avons souhaité identifier les questionnements et les attentes des différentes professions qui gravitent autour de ces animaux aquatiques, et principalement la place du vétérinaire au sein de ces structures.

Pour essayer de répondre à nos questions, nous avons effectué dans un premier temps une revue bibliographique sur les conditions d'hébergement et d'entretien des espèces

aquatiques, de l'impact de la santé de ces espèces sur les études comportementales et cognitives et des connaissances actuelles permettant d'assurer cette bonne santé. Dans un second temps, nous avons ensuite analysé, au moyen d'interviews de professionnels (vétérinaires, chercheurs, techniciens et soigneurs), la mise en pratique de ces connaissances dans les laboratoires de recherche européens. En plus de présenter les points à prendre en considération selon les recommandations pour fournir un conseil vétérinaire efficace, ce travail a également permis, grâce à la qualité des échanges avec les professionnels interrogés, de renforcer notre motivation personnelle envers une carrière en éthologie et cognition des espèces aquatiques.



# I. Pourquoi et comment s'assurer de la santé des espèces aquatiques utilisées à des fins scientifiques ?

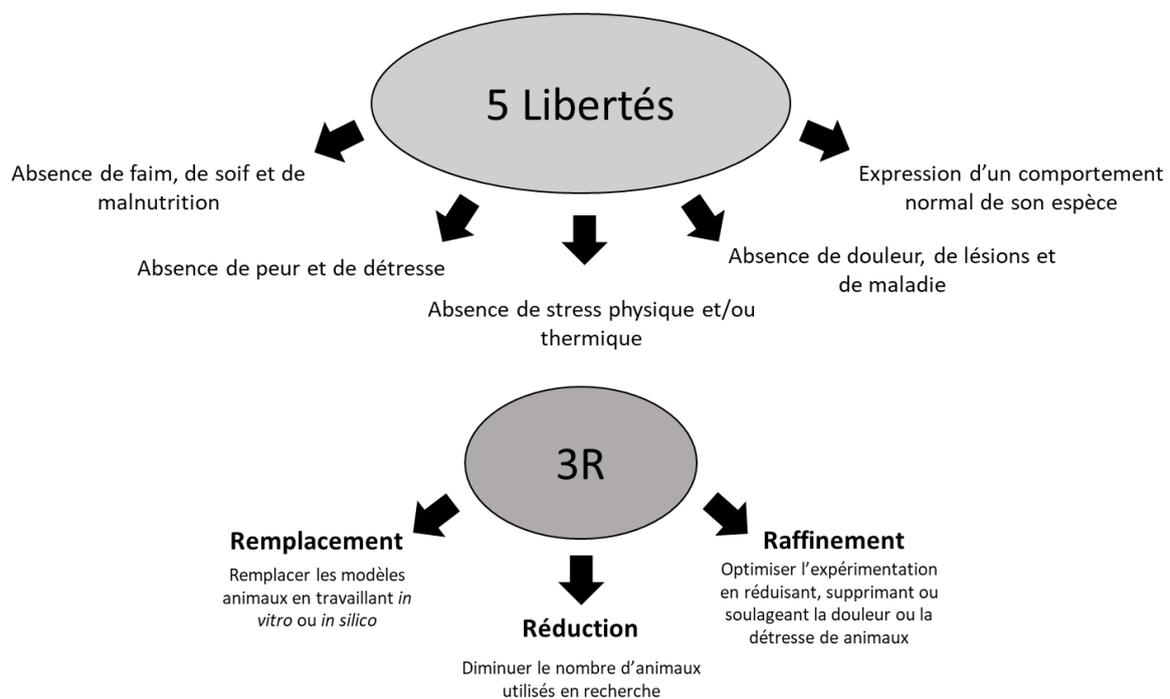
## 1. Principes directeurs de l'utilisation des animaux en recherche

La santé des animaux est comprise de nos jours dans la vision contemporaine plus globale de bien-être animal. Le bien-être animal est défini par l'OIE (Organisation mondiale de la santé animale, anciennement Office International des Épizooties) comme « l'état physique et mental d'un animal en relation avec les conditions dans lesquelles il vit et meurt ». L'animal étant un être sensible, la santé, évaluée en termes de physiologie et de comportement, est donc une composante du bien-être animal mais le bien-être ne saurait être réduit à ce seul facteur (Broom, 2001). Il est important de noter dès à présent que la législation internationale, et particulièrement celle applicable en Europe, établit des principes et des normes de respect du bien-être animal (Union Européenne, 2009). Cette approche impose de tout détenteur d'animaux un hébergement et un entretien adaptés aux besoins (y compris sociaux) de l'espèce au minimum conformes aux réglementations en vigueur. D'un professionnel, elle exige en outre une qualification minimale et un programme sanitaire pour prévenir, détecter et intervenir en cas de trouble de santé (y compris la prise en compte des zoonoses). À cela s'ajoute pour l'utilisation des animaux en recherche une conduite scientifique et éthique qui prend en considération le bien-être des animaux tout au long de leur vie.

La notion de bien-être animal est guidée par de grands principes fondateurs, notamment celui des cinq libertés développé en 1965 (**Figure 1**). L'utilisation des animaux en recherche est, en plus de ces principes généraux de bien-être, également guidée par des principes fondateurs, le plus important étant sans doute les 3R (Remplacement, Réduction, Raffinement) développé en 1959 (Russel & Burch, 1959) (**Figure 1**). S'assurer du bien-être des animaux en recherche fait ainsi part intégrante de la partie Raffinement des 3R.

Les recherches sur le bien-être animal s'appuyant en grande partie sur des aspects comportementaux, cette notion est très importante en recherche comportementale et cognitive. Les journaux spécialisés en éthologie sont ainsi souvent les premiers à exiger un état de bien-être élevé. Un important journal consacré à l'éthologie, *Animal Behaviour*, a été un pionnier dans ce domaine en créant un comité d'éthique interne examinant l'état de bien-être des animaux des articles qui leur sont soumis. La santé des animaux utilisés dans les travaux souhaitant être publiés dans ce journal se doit d'être maximale et le journal encourage fortement la consultation de vétérinaires pour diverses facettes des procédures de recherche telles que les conditions de vie, la détection des signes de souffrance, le transport ou l'utilisation de méthodes d'analgésie, anesthésie et euthanasie appropriées (*Animal Behaviour*, 2022). Le journal *Ethology* est aussi le premier journal à incorporer la méthode STRANGE (Social background, Trappability and self-selection, Rearing history, Acclimation and habituation, Natural changes in responsiveness, Genetic make-up, Experience) dans ses lignes directrices, qui invite les chercheurs à se questionner sur le choix des animaux utilisés dans leurs études (Webster & Rutz, 2020 ; Rutz & Webster, 2021).

On peut remarquer que la pression sociétale en matière de bien-être animal est une opportunité pour les chercheurs car elle entraîne une action des autorités gouvernementales, qui crée des possibilités de financements nationaux ou internationaux. De tels financements ne peuvent qu'être très appréciés par la recherche comportementale et cognitive qui n'avait accès qu'à peu de moyens jusqu'alors, surtout pour les espèces aquatiques qui ne soulevaient auparavant que peu d'intérêt du public (Kristiansen & Bracke, 2020).



**Figure 1 : Principes des cinq libertés fondamentales et des 3R.** Le principe des cinq libertés fondamentales est un pilier de l'étude du bien-être animal en élevage. Il a été adopté comme principe directeur de l'OIE et ce principe est largement repris pour penser le bien-être des animaux en laboratoire. Le principe des 3R est un pilier d'une conduite éthique de la recherche animale. La santé des animaux est une des cinq libertés et est comprise dans la partie « Raffinement » des 3R. (D'après les sites internet du Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation et de l'Inserm)

## 2. Pourquoi s'assurer de la santé des espèces aquatiques en laboratoire ?

S'assurer du bien-être des animaux utilisés en expérimentation animale répond à un triple enjeu : un enjeu éthique, un enjeu scientifique de validité expérimentale et un enjeu réglementaire de respect des lois.

### a. Enjeu éthique

Ces temps-ci, la violence des critiques et des actions contre la recherche animale est le plus souvent portée par des groupes radicaux de défenses des droits animaux (Hirsch-Hoefler & Mudde, 2014). Une initiative citoyenne européenne réclamant l'abolition de

l'expérimentation animale dans l'Union Européenne avait obtenu plus d'un million de signatures en 2015. Les scientifiques travaillant avec les animaux ne peuvent s'abstenir de ce fait d'une réflexion morale (définition des principes et valeurs) et éthique (règles consensuelles d'application de la morale) quant à leur utilisation de l'animal.

L'éthique animale est un domaine d'études en pleine expansion depuis le milieu du XX<sup>ème</sup> siècle, et de nombreuses problématiques éthiques entourent la recherche (Dolan, 1999; Vilmer, 2008). Les liens pouvant se créer entre les chercheurs et leurs sujets d'étude ne sont pas négligeables, et peuvent même parfois être sources de dilemmes moraux (Herzog, 2002). Il convient donc aux chercheurs d'adopter une éthique personnelle mais aussi d'établir des règles consensuelles et transparentes face à leurs sujets d'étude.

#### **b. Enjeu de validité expérimentale**

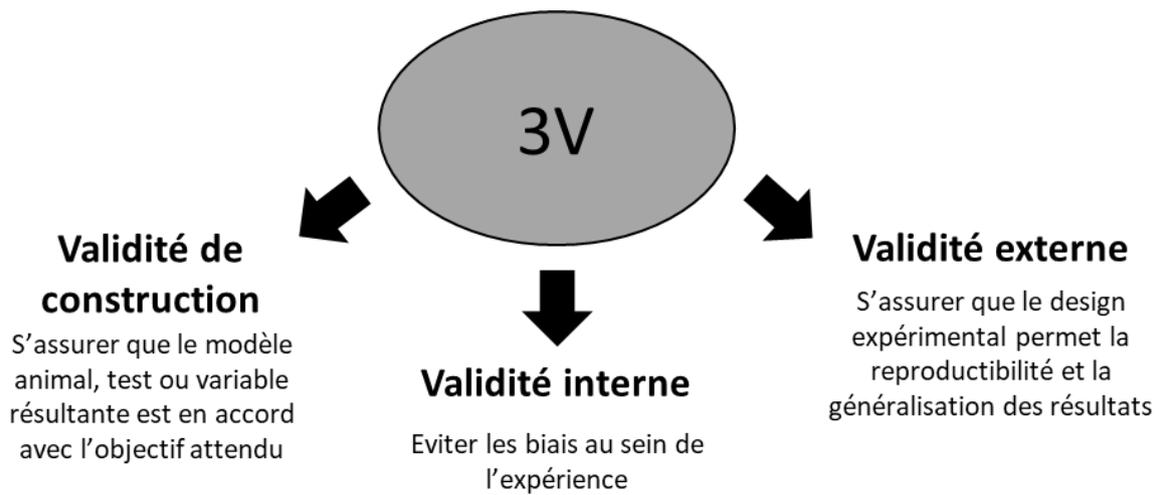
Pour maximiser la balance bénéfices-risques en recherche animale, il est important de respecter les 3R mais aussi les 3V (Validité de construction, Validité interne, Validité externe) (Würbel, 2017) (**Figure 2**). S'assurer d'une bonne santé des animaux de laboratoire permet d'établir une bonne validité interne (Slack & Draugalis, 2001).

Un bon état de bien-être est ainsi le garant d'une recherche de qualité. Une corrélation positive a par exemple pu être trouvée entre la participation volontaire aux expériences chez les chimpanzés *Pan troglodytes* et leur état de bien-être, évalué par des indicateurs comportementaux comme la diversité comportementale, les comportements anormaux, les grattages, l'inactivité ou la locomotion (Webb, Hau & Schapiro, 2019). Les professionnels travaillant avec les animaux de laboratoire sont ainsi fortement encouragés à développer une relation positive entre humains et animaux afin de maximiser leur bien-être et obtenir des avantages en retour, tels qu'une validité expérimentale accrue ou des actes vétérinaires facilités (Brando, 2012 ; Daugette *et al.*, 2012). De nombreuses innovations sont ainsi apparues pour différentes espèces. Pour les rongeurs par exemple, l'anxiété provoquée par la manipulation peut être réduite par l'utilisation de tunnels de manipulation chez les souris ou de chatouilles chez les rats (Gouveia & Hurst, 2013 ; Cloutier *et al.*, 2018).

Les pratiques de gestion des animaux en laboratoire peuvent également entraîner des déviations dans les paramètres physiologiques et comportementaux des individus et donc impacter la reproductibilité des études et la validité expérimentale. Des effets héréditaires peuvent apparaître par sélection artificielle au fil des générations ou des effets temporaires peuvent émerger à l'échelle d'un établissement selon les conditions d'hébergement et d'entretien.

Pour le premier point, l'origine-même des animaux est importante. Des espèces domestiquées depuis longtemps peuvent connaître des changements radicaux quant à leurs physiologie et comportement via des processus de sélection. Par exemple, les mécanismes de détermination sexuelle des poissons zèbres de laboratoire sont devenus au fil des générations différents de ceux opérant en milieu naturel (Wilson *et al.*, 2014). Une grande diversité d'espèces aquatiques est utilisée en recherche comportementale et cognitive et il est plutôt rare que les animaux proviennent d'élevages spécialisés. De nombreux animaux sont obtenus

via le commerce aquariophile ou par échantillonnage dans le milieu naturel, ce qui peut avoir de fortes conséquences en termes de santé et de comportement (Stevens *et al.*, 2017).



**Figure 2 : Principe des 3V.** Ce principe permet de s'assurer de la meilleure validité expérimentale possible et est à penser en équilibre avec les 3R lors de la création d'une expérience. S'assurer d'une bonne santé des animaux de laboratoire est compris dans la validité interne de l'expérimentation animale. (D'après Würbel, 2017)

Pour le deuxième point, les conditions d'hébergement et de gestion des animaux à l'échelle d'un établissement peuvent impacter leur comportement. En effet, l'environnement d'élevage des animaux peut affecter leurs capacités cognitives (Thornton & Lukas, 2012). Un des récents leviers sur lequel peut s'appuyer l'amélioration du bien-être animal est le fait de proposer des enrichissements. Un enrichissement doit être choisi avec soin car il peut entraîner des conséquences négatives (Bayne, 2005), mais il a été montré chez les souris et les primates que les enrichissements avaient de fortes conséquences positives neurologiques et comportementales (van Praag, Kempermann & Gage, 2000 ; Bayne, 2005). De plus, il a été montré que les enrichissements n'avaient pas d'impact négatif sur la standardisation des données (Bayne & Würbel, 2014). L'enrichissement de l'environnement des animaux de laboratoire est donc un aspect à développer lors de l'amélioration du bien-être, et il se doit d'être réfléchi et approprié à l'espèce étudiée (**Figure 3**). Un environnement peu enrichi peut amener à des conséquences comportementales négatives qui mettent en péril les conclusions expérimentales. De nombreux enrichissements sont disponibles pour les espèces aquatiques : fonds d'aquariums imagés, substrat particulier (galets, sable...), plantes naturelles ou artificielles, rochers, tubes pour se cacher... L'utilisation de nourriture vivante, comme des artémies ou des paramécies, est également un enrichissement très apprécié de la plupart des espèces.



**Figure 3 : Enrichissement pour des cichlidés *Neolamprologus multifasciatus*.** Cette espèce est une espèce de cichlidé africain du lac Tanganyika. Du sable, des rochers et une coquille vide (dans lesquelles ces poissons vivent), ont été apportés pour créer un environnement le plus écologiquement valide possible. Quatre individus peuvent être aperçus dans cette image, repérable (difficilement) à leurs yeux d'un bleu très clair. À vos lunettes ! (Source : Maëlan Tomasek)

D'autres pratiques de gestion peuvent impacter les comportements des animaux. La capacité d'apprentissage lieu-temps lors du nourrissage a par exemple été montrée chez certaines espèces de poissons (Gómez-Laplaza & Morgan, 2005 ; Brown, 2015) et les comportements des espèces aquatiques pourraient ainsi être modifiés à l'approche des heures de nourrissages. De plus, il a été montré par mesure de la cortisolémie et glycémie chez la daurade *Abramis brama* qu'un nourrissage à heure fixe était moins stressant pour les animaux qu'un nourrissage à heures aléatoires et pouvait ainsi garantir un meilleur état de bien-être (Sánchez *et al.*, 2009).

Il est donc considéré comme important aujourd'hui de savoir se mettre à la place des animaux que l'on teste, mais qu'en est-il des espèces aquatiques ? Il est très difficile de comprendre ce que perçoit une espèce aquatique car le simple environnement dans lequel elles évoluent nous est complètement étranger. Pourtant, appréhender la richesse perceptuelle de ces espèces (Birch, Schnell & Clayton, 2020) est essentiel pour s'assurer d'un bon état de bien-être et d'une bonne validité expérimentale. A titre d'exemple, les espèces aquatiques sont beaucoup plus sensibles au bruit ou aux vibrations et ce sont des paramètres à prendre en compte pour les expériences (Fewtrell & McCauley, 2012). De plus, il est important de comprendre le fait que les espèces aquatiques sont bien plus liées à leur milieu que les espèces terrestres. Ainsi, la qualité de l'eau est le paramètre essentiel pour s'assurer

d'une bonne santé des animaux et de la validité des résultats expérimentaux (Johansen *et al.*, 2006).

Pour favoriser la reproductibilité des expérimentations en recherche animale, le guide ARRIVE (Animal Research: Reporting of *In Vivo* Experiments) a été créé afin d'aider les scientifiques à présenter leurs méthodes et résultats. Sous la forme d'une liste, ce guide permet la description suffisante des caractéristiques des animaux, de leurs conditions de vie et du plan d'expérience. Le statut sanitaire des animaux est un des critères se devant d'être reporté (du Sert *et al.*, 2020).

Le bien-être et la santé des animaux de laboratoire, ainsi que les conditions de vie, sont donc étroitement liés à la validité expérimentale des recherches. Cet enjeu est peut-être encore plus présent en recherche comportementale et cognitive que dans d'autres domaines de la recherche animale ; l'**Encart 1** illustre par exemple comment l'état de santé modifie les relations sociales chez les poissons.

### **Encart 1. Santé et socialité des espèces aquatiques**

Pour illustrer notre propos, nous allons nous attarder sur un domaine particulier de l'éthologie et de la cognition animale afin d'essayer de voir comment la validité expérimentale peut être impactée par une santé altérée. Nous nous intéresserons ici à l'étude des relations sociales et à la cognition sociale, qui sont des champs de recherche qui se sont fortement développés ces dernières années chez les espèces aquatiques et notamment chez les poissons (Vila Pouca & Brown, 2017).

Tout d'abord, il est important de noter que chez certaines espèces comme le poisson zèbre *Danio rerio*, le statut social a un impact sur la santé, les subordonnés ayant un système immunitaire plus faible que les dominants (Filby *et al.*, 2010). De plus, la séparation d'une paire de poissons peut influencer les états affectifs de manière négative chez les cichlidés *Amatitlania siquia* (Laubu, Louâpre & Dechaume-Moncharmont, 2019). Les relations entre santé (physique et mentale) et socialité sont donc bien plus bidirectionnelles que ce que nous allons présenter mais nous nous intéresserons maintenant uniquement aux conséquences de la santé sur le comportement social.

Un facteur important à prendre en compte lors de l'étude d'un groupe social est que le stress peut être communiqué entre individus. Un simple individu stressé peut ainsi propager ce stress à tout le groupe social et entraîner des modifications de comportement. Cette communication sociale du stress via des signaux chimiques relâchés dans l'eau (cortisol et phéromones d'alarme) a été montrée chez les truites arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss*, les jundias *Rhamdia quelen* et les tilapias du Nil *Oreochromis niloticus* (Toa, Afonso & Iwama, 2004 ; Barcellos *et al.*, 2011). Ces espèces étant plutôt éloignées phylogénétiquement, il est très probable que cette communication soit présente dans de nombreuses espèces de poissons.

L'état de santé d'un animal affecte également le comportement des autres individus du groupe par rapport à cet individu. En effet, il a été montré que, comme chez les rongeurs

qui reconnaissent les individus parasités (Kavaliers, Choleris & Pfaff, 2005), les espèces aquatiques pouvaient également identifier des individus infectés par des agents pathogènes. Ainsi, les épinoches *Gasterosteus aculeatus* peuvent reconnaître et éviter des individus infestés par l'ectoparasite *Argulus canadensis*, mais seulement lorsque ces individus présentent des modifications comportementales (Dugatkin, FitzGerald & Lavoie, 1994). Chez les fondules barrées *Fundulus diaphanous*, l'infestation par les trématodes *Crassiphilia bulboglossa* influence la place des individus au sein du banc (Ward *et al.*, 2002). Il en est de même chez les gambusies *Gambusia affinis*, qui peuvent reconnaître et éviter les individus infectés par le trématode *Uvulifer sp.* qui cause la maladie des points noirs, et ces infestations entraînent des modifications dans le comportement de banc (Tobler & Schlupp, 2007). Ces maladies sont heureusement identifiables macroscopiquement.

Plus problématique, certaines maladies entraînent des modifications de comportement sans pouvoir être identifiées macroscopiquement. Les homards *Panulirus argus* sont capables d'identifier et d'éviter des individus infectés par le virus PaV1 (Panulirus argus Virus 1), même s'ils ne présentent pas de signes cliniques, et cela influence la distribution spatiale des individus dans le milieu (Behringer, Butler & Shields, 2008 ; Behringer & Butler, 2010). Cette reconnaissance est médiée par des signaux chimiques se trouvant dans l'urine (Anderson & Behringer, 2013). Les poissons zèbres *Danio rerio* peuvent être infectés par *Pseudoloma neurophila*, une microsporidie du système nerveux central dont l'infection est le plus souvent subclinique et qui était présente dans 75% des laboratoires examinés lors d'une enquête en 2006 (Murray, 2015). Il a été montré que cette infection subclinique entraînait des modifications comportementales, notamment lors de la formation des bancs (Spagnoli, Sanders & Kent, 2017).

Ainsi, la présence d'un individu infecté ou malade peut entraîner des changements importants dans le comportement de cet individu, mais aussi dans celui de ses congénères et les conclusions d'expériences étudiant de tels groupes sociaux peuvent être faussées si la santé du groupe dans son ensemble n'est pas assurée.

Enfin, les pratiques de gestion des animaux de laboratoire peuvent également affecter les groupes sociaux et mettre en péril la validité des expériences. Par exemple, il a été montré qu'un planning de dressage prévisible dans les groupes de deux espèces de raies différentes entraînait un comportement d'agitation plus marqué, des agressions inter et intraspécifiques plus fortes, ainsi que des modifications du réseau social (Farmer, Murphy & Newbolt, 2019).

### c. Enjeu réglementaire

Assurer le meilleur état de bien-être aux animaux de laboratoire n'est pas seulement une possibilité, c'est un devoir. Prendre toutes les mesures nécessaires pour que les animaux utilisés en recherche soient en bonne santé répond à une exigence réglementaire. La directive européenne 2010/63/EU relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques a été transposée et mise en application en France en 2013 (Décret 2013-118) : elle impose d'assurer le bien-être des animaux vertébrés utilisés en expérimentation animale, dont les

poissons, et y ajoute les céphalopodes. Elle ne comprend en revanche pas les décapodes (Directive 2010/63/EU, 2010). L'annexe à cette directive mentionne des exigences relatives à l'hébergement des poissons comme la qualité de l'eau, l'alimentation, la densité animale et l'enrichissement.

En France, chaque établissement utilisant des animaux à des fins scientifiques est soumis à un agrément administratif et à un contrôle régulier par les services d'inspection de la DDCSPP (Direction Départementale en charge de la Cohésion Sociale et de la Protection des Populations) (Arrêté du 1<sup>er</sup> février 2013 relatif à l'agrément). Ceci garantit la traçabilité des animaux utilisés, le respect des normes d'hébergement et d'entretien, et la qualification du personnel. Cet arrêté détaille également les missions de la Structure chargée du Bien-Être des Animaux (SBEA) qui doit être présente dans chaque établissement. Cette structure a principalement un rôle de conseil et de suivi des projets.

Un certificat de capacité est également requis pour certaines activités, comme la détention d'animaux d'espèces sauvages (Arrêté du 8 octobre 2018). Ce certificat, délivré par la Préfecture, valide la qualification du détenteur (formations diplômantes ou expérience professionnelle). Chaque établissement de recherche se doit ainsi d'avoir au moins une personne détentrice du certificat de capacité pour chaque espèce animale non domestique utilisée, soit l'ensemble des poissons (à part les carpes koi, les poissons rouges, les guppies, les poissons zèbres et les combattants, considérés comme espèces domestiques selon l'Arrêté du 11 août 2006) et des céphalopodes.

Enfin, certaines espèces les plus couramment utilisées à des fins scientifiques sont soumises à des régulations spécifiques. En France par exemple, les poissons zèbres doivent provenir d'un éleveur ou fournisseur agréé (Arrêté du 1<sup>er</sup> février 2013 relatif à la fourniture des animaux).

Prodiguer les meilleures conditions aux animaux pour assurer leur bien-être répond donc à un triple enjeu éthique, scientifique et réglementaire, et doit être une priorité des laboratoires. Cependant, les professionnels travaillant avec des espèces aquatiques se retrouvent face à un problème de taille : comment s'assurer du bien-être et de la santé de telles espèces ?

### 3. Comment s'assurer de la santé des espèces aquatiques utilisées en recherche ?

---

#### a. Évaluation des animaux et de leur environnement

La directive européenne 2010/63/EU requiert de la part des établissements de recherche animale une surveillance quotidienne des animaux. Cette surveillance s'effectue grâce à une vérification des paramètres d'hébergement et une observation visuelle des animaux.

##### i. Évaluation de l'environnement

Garder des animaux aquatiques en environnement artificiel implique une gestion rigoureuse des paramètres de l'eau, qui sont les paramètres les plus importants en termes de santé et de validité expérimentale (Johansen *et al.*, 2006) (**Annexe 1**). Il existe de nombreux

paramètres physico-chimiques pouvant impacter la santé des animaux et la liste ci-dessous détaille certains des paramètres primordiaux (Noga, 2010) :

- **Concentration en oxygène dissous** : une hypoxie environnementale peut évoluer rapidement en cas de surpopulation, de problème de brassage de l'eau ou de « bloom » d'algues.
- **Température** : chaque espèce possède une température optimale, ainsi qu'une limite basse et haute d'hypo et hyperthermie si elles sont franchies.
- **Ammonium et nitrite** : de trop fortes concentrations en ces déchets azotés peuvent entraîner des empoisonnements pouvant s'avérer létaux. En circuit fermé ou semi-fermé (recyclage de tout ou d'une partie de l'eau), il est ainsi très important de s'assurer du bon fonctionnement des filtres.
- **pH** : de même que pour la température, chaque espèce possède une valeur de pH optimale.

D'autres paramètres peuvent être importants et causer des problèmes de santé comme la dureté de l'eau, la salinité si nécessaire, les concentrations en divers ions...

La surveillance de ces paramètres peut s'effectuer de différentes manières. Elle peut être manuelle avec l'utilisation de bandelettes tests (pH, nitrates, carbonates...) ou totalement automatisée avec des systèmes d'alarmes et des circuits de secours en cas de variation d'un ou de plusieurs paramètres. Il est alors primordial de vérifier le bon fonctionnement des machines car un dysfonctionnement non repéré peut avoir de graves conséquences.

Pour s'assurer du bien-être des animaux, les conditions de vie doivent également être appropriées à l'espèce étudiée. Il convient de fournir une alimentation adaptée et possiblement enrichie (Stevens *et al.*, 2017), ainsi que des enrichissements et un environnement social qui font sens pour l'espèce en question (O'Brien *et al.*, 2017 ; Lee, Paull & Tyler, 2022). Comme nous le développerons plus loin, il est néanmoins difficile de trouver des référentiels d'espèces fiables et adaptés à l'hébergement en laboratoire. En effet, la plupart des recommandations sont éditées pour l'aquaculture, qui ne couvre que leurs espèces d'intérêt, s'intéresse aux critères de productivité et ne possède pas les mêmes structures d'hébergement ni ne gère les mêmes effectifs que certains laboratoires.

## ii. Évaluation des animaux

Chaque individu doit être évalué quotidiennement par un examen clinique simplifié, et en cas de besoin par un examen clinique approfondi. Des indicateurs zootechniques peuvent être aussi utilisés à l'échelle de la population (consommation alimentaire par exemple) et dans la durée (longévité, croissance...). Cependant, ces évaluations se font par comparaison à des normes de référence, qui ne sont pas toutes disponibles ou suffisamment précises pour les espèces étudiées, ce qui peut restreindre la liste des critères utiles.

Les modalités de l'examen clinique individuel sont bien décrites chez les poissons (Wildgoose, 2001 ; Blanc, 2018). L'examen simple se fait la plupart du temps seulement à distance sans équipement, mais l'examen approfondi peut se faire de manière rapprochée et même à l'aide d'équipements et de prélèvements (**Annexe 2**). Cet examen est important en

recherche comportementale car il va permettre de s'assurer que les individus sont en pleine capacité physiologique à résoudre la tâche qui leur est demandée (**Encart 2**).

L'examen à distance s'intéresse à l'attitude et au comportement des individus. Plusieurs paramètres sont observés :

- **Réactivité aux stimuli et attitudes aberrantes** : un animal atteint va plus facilement rester caché et éviter les mouvements. Certains comportements vont attirer l'attention sur des problèmes particuliers : un animal qui se frotte sur le sol ou les décors suggère une atteinte cutanée, un animal à proximité de la surface ou des zones de brassage peut suggérer une hypoxie... Il est également important comme nous l'avons abordé précédemment de regarder les interactions interindividuelles qui sont porteuses d'informations essentielles.
- **Respiration** : il est possible d'évaluer la fréquence respiratoire et l'amplitude respiratoire via les mouvements respiratoires (mouvements operculaires et buccaux chez les poissons téléostéens, contractions du manteau chez les céphalopodes...). Cette évaluation est impossible chez les décapodes chez qui les branchies sont la plupart du temps associées aux péréiopodes au sein d'une cavité branchiale.
- **Nage et position dans la colonne d'eau** : certains individus peuvent présenter des défauts de mobilité dus à une atteinte des nageoires, des muscles, des os ou équivalents, une fatigue globale de l'organisme ou un problème de flottabilité.
- **Appétit** : à chaque nourrissage, il est important de regarder individuellement la prise alimentaire (quantité, rapidité, tri...).
- **Aspect externe** : certaines lésions peuvent être visibles sur le tégument. Il est également possible de repérer des anomalies de forme, comme une distension abdominale, ou de couleur. Ce dernier paramètre est à prendre avec précaution car la majorité des espèces de poissons, céphalopodes et décapodes sont capables de changer de couleur rapidement. Cependant, ces variations peuvent également être liées à un stress ou une souffrance et peuvent être informatives pour l'examen clinique. Il est alors intéressant de comparer avec les couleurs normalement arborées par l'individu ou par d'autres individus du groupe.

L'examen rapproché nécessite une contention de l'animal. Il se fait généralement dans l'eau dans un récipient adapté. Des moyens de grossissements tels que des loupes sont parfois utiles pour des petites espèces. Les manipulations peuvent être stressantes pour les animaux et une sédation peut être recommandée (Noga, 2010). Les différents paramètres pouvant être évalués sont :

- **Aspect externe** : il est alors possible d'observer l'animal plus en détail. Il faut noter l'état corporel (état d'engraissement et musculature si évaluable), la forme, la couleur, le tégument (irritations, érosions, pertes de mucus, ulcères, hyperplasies, nodules, masses, pétéchies, lésions parasitaires...).
- **Nageoires ou membres locomoteurs** : il faut repérer les éventuelles fractures, déchirements, épaissements, saignements, nécroses, ectoparasites ou paralysies.
- **Bouche** : il est possible d'utiliser un otoscope ou un endoscope pour évaluer l'orifice buccal chez de nombreuses espèces.

- **Pores sensoriels** : si possible, les pores sensoriels comme les narines ou les pores de la ligne latérale ou équivalent peuvent être évalués.
- **Yeux** : un examen ophtalmologique peut être réalisé pour évaluer le globe oculaire ou les structures intra-oculaires à l'aide d'un ophtalmoscope. Il est cependant important de garder à l'esprit que les yeux de la plupart des espèces aquatiques sont très sensibles à la lumière. Il faut donc réaliser l'examen rapidement pour éviter les lésions.
- **Branchies** (poissons) : il est possible d'évaluer l'opercule puis les branchies en soulevant délicatement l'opercule ou la fente branchiale. Il faut noter la couleur, la régularité d'aspect, la présence de mucus et l'absence de lésions, pigmentation ou hémorragies. Il peut également être pertinent de réaliser un prélèvement sous anesthésie pour examen microscopique.
- **Organes internes** : une palpation peut être réalisée même si souvent difficile dans la pratique. Un appareil doppler peut être utilisé pour évaluer la fonction cardiaque mais les valeurs obtenues sont souvent peu informatives par manque de valeurs de référence.

#### Encart 2 : Étude de cas appliquée à la recherche comportementale

Il est important de s'assurer de la bonne santé des animaux afin d'éviter des résultats biaisés lors d'une étude en recherche comportementale. Nous allons ici étudier un exemple développé lors de notre stage de Master : un cas d'apprentissage associatif chez un poisson cichlidé du lac Tanganyika, *Neolamprologus ocellatus*. L'apprentissage associatif est un procédé très courant en éthologie et cognition animale. Le but de l'expérience ici est d'apprendre aux poissons à se nourrir dans un coquillage d'une certaine couleur (**Figure 4**).



**Figure 4 : Apprentissage associatif chez un mâle *N. ocellatus*.** L'individu se trouve au centre en bas de l'image, à proximité du coquillage autour duquel il a bâti son nid. Il est en train de se diriger vers le coquillage bleu dans lequel une récompense alimentaire (artémies) sera injectée. (Source : Maëlan Tomasek)

Il est important d'écartier tout problème de santé pouvant empêcher les individus de réussir cette tâche. Les deux paramètres les plus importants à évaluer ici sont la vision et la mobilité :

- **Évaluation de la vision :** un examen externe rapproché peut être réalisé pour détecter des lésions oculaires. Un examen plus poussé à l'ophtalmoscope peut également être réalisé mais il est stressant pour les animaux et nécessite une sédation, il n'a pas été réalisé dans notre cas. Le comportement de l'animal est également à évaluer pour s'assurer qu'il réagisse bien aux stimuli visuels. Les couleurs des coquillages sont également à bien choisir. Un test de différenciation des couleurs peut être mené, ainsi qu'une recherche bibliographique. Dans notre cas, la littérature indique que les cichlidés sont tétrachromatiques et sont donc capables de différencier le bleu de l'orange (nos deux couleurs choisies pour l'expérience) (Sabbah *et al.*, 2010). Aucune donnée sur notre espèce étudiée en particulier n'a été trouvée, mais certaines espèces de la tribu des Lamprologinés à laquelle appartient *N. ocellatus* sont effectivement capables de cette discrimination (Egger *et al.*, 2011).
- **Évaluation de la mobilité :** les individus devant se rendre à la cible pour y prélever la récompense alimentaire, il est important de s'assurer de leur capacité à se mouvoir. Un examen à distance de leur état général, de leur nage et de leur flottabilité est nécessaire. Un examen rapproché des nageoires est également utile.

D'autres paramètres jouent bien sûr un rôle dans la réalisation de cette tâche, comme l'odorat ou la possible perception des proies par mécanoréception. Un examen de santé général et adapté à la tâche demandée est primordial pour assurer la validité expérimentale des manipulations.

Une évaluation quotidienne des animaux et de l'environnement permet ainsi une détection précoce des anomalies. Des fiches d'élevage à remplir quotidiennement sont souvent mises en place par les laboratoires afin de réaliser cette évaluation le plus rigoureusement possible (**Annexe 3**). Le plus souvent, l'examen rapproché des animaux ne se fera qu'en cas de suspicion d'atteinte particulière car il est stressant pour les animaux et la balance bénéfices/risques est donc à évaluer.

## b. Focus sur le stress

### i. Impact du stress sur la santé et la validité expérimentale

De nombreux auteurs ont insisté sur la limitation du stress pour améliorer le bien-être des espèces aquatiques et s'assurer de leur bonne santé (Stevens *et al.*, 2017). Le stress est ici vu comme un syndrome d'inadaptation de l'organisme à son environnement, dans sa dimension pathologique. Il existe une grande variété d'effets à court ou long terme du stress : changements métaboliques, dysfonctions cardiovasculaires, immunosuppression, incidence augmentée en parasites, maladies bactériennes et virales, désordres psychologiques... Le stress est ainsi étroitement lié à la santé des animaux, via la production notamment de glucocorticoïdes ou de catécholamines qui peuvent déréguler le métabolisme et le système immunitaire (Padgett & Glaser, 2003).

Les animaux aquatiques sont sujets à de nombreux facteurs de stress car leurs mécanismes homéostatiques dépendent de leur environnement immédiat. De nombreux facteurs de l'environnement peuvent ainsi être sources de stress dans un environnement artificiel : salinité, pH, dureté, alcalinité, solides dissous, niveau de l'eau ou présence de courants, agents pathogènes ou toxiques, accumulation de déchets azotés... (Harper & Wolf, 2009). De nombreux travaux ont été effectués sur l'impact du stress sur la santé des poissons en aquaculture (Rottman, Francis-Floyd & Durborow, 1992), certaines études montrant par exemple l'influence du stress thermique sur le système immunitaire de certaines espèces de poissons (revu dans Mariana, Alfons & Badr, 2019), ou chez les poissons d'ornement, chez lesquels Eslamloo *et al.* (2014) ont par exemple pu montrer qu'une manipulation répétée (stress aigu présenté de manière répétée) entraînait une immunosuppression chez le poisson rouge (*Carassius auratus*). Les poissons soumis à un stress peuvent également présenter des conséquences morphologiques avec des lésions sur de nombreux organes (Harper & Wolf, 2009), mais aussi physiologiques : un simple stress aigu de manipulation peut rapidement altérer le profil biochimique des saumons royaux *Oncorhynchus tshawytscha* (Young *et al.*, 2019). Il a également été montré chez les poissons zèbres qu'un stress chronique de surpopulation ou de manipulation entraînait une sensibilité plus élevée aux infections mycobactériennes (Ramsay *et al.*, 2009). Une approche du bien-être et de la santé des espèces aquatiques par la limitation du stress semble donc être une bonne approche en laboratoire.

Le stress impacte également la validité expérimentale en recherche comportementale et cognitive, car la réponse tertiaire au stress va entraîner des modifications comportementales (Barton, 2002). Les processus de mémoire sont par exemple détériorés en cas de stress. Il a été montré que l'apprentissage par conditionnement est modifié par de hauts niveaux en cortisol chez la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* (Barreto, Volpato & Pottinger, 2006). Enfin, le stress lui-même peut être conditionné et être déclenché par le simple souvenir d'une situation particulière, comme montré chez le tilapia du Nil (Moreira & Volpato, 2004). Les résultats d'une expérience comportementale ou cognitive sont ainsi sans nul doute altérés par un possible stress et il est important de le limiter pour s'assurer d'une bonne validité expérimentale.

## ii. Évaluation du stress

L'évaluation du stress chez les espèces aquatiques peut se faire par plusieurs moyens. Le premier moyen est l'observation du comportement. Les changements de comportement peuvent par exemple être utilisés pour distinguer différents degrés de stress hypoxique chez le tilapia du Nil *Oreochromis niloticus* (Xu *et al.*, 2006). Il est donc important de bien observer les animaux en laboratoire pour détecter des comportements évocateurs de stress, notamment le comportement alimentaire. Un stress d'exposition à l'ammonium peut par exemple supprimer l'appétit chez les truites arc-en-ciel (Ortega, Renner & Bernier, 2005). Des approches comportementales se basant sur des tests de tempérament comme la motivation à quitter un abri ou alors la mesure de la néophobie ont aussi été développées (Brydges *et al.*, 2009).

Des mesures physiologiques non invasives peuvent également être utilisées, comme le taux de ventilation via le taux de battement operculaire (Brydges *et al.*, 2009).

Une méthode additionnelle possible est la mesure du cortisol en laboratoire (Pavlidis *et al.*, 2013 pour un exemple chez les poissons zèbres). Cette mesure peut se réaliser par dosage du cortisol plasmatique après prise de sang (Fast *et al.*, 2008 pour un exemple chez les saumons atlantiques) ou par un dosage corporel total, nécessitant le sacrifice de l'individu. Ce dernier est particulièrement utile chez les petites espèces pour lesquelles les prises de sang sont très difficiles voire impossibles (Ramsay *et al.*, 2006). Une autre méthode non-invasive a été développée et consiste à mesurer le taux de cortisol directement dans l'eau (Scott, Pinillos & Ellis, 2001). Cette approche se base sur la diffusion passive du cortisol dans le milieu au niveau des branchies et a été validée chez plusieurs espèces dont le poisson zèbre (Félix *et al.*, 2013; Pavlidis *et al.*, 2013). Il est cependant important de garder en tête les limites de cette méthode (Scott *et al.*, 2008), notamment le fait que la taille des individus peut influencer le taux de relargage du cortisol, comme montré chez les daurades *Dicentrarchus labrax* (Fanouraki, Papandroulakis & Pavlidis, 2009). Cette méthode non-invasive peut être néanmoins très fiable. Un monitoring du stress similaire chez les crustacés pourrait être envisageable en dosant les messagers moléculaires de stress comme l'hormone hypoglycémisante des crustacés (CHH) (Adamo, 2012) ou des amines comme la sérotonine (Fossat *et al.*, 2014, 2015).

D'autres méthodes moins classiques peuvent être utilisées pour monitorer le stress. Il est par exemple possible chez les poissons de réaliser des analyses histologiques de peau car le stress augmente le nombre de cellules à mucus (Vatsos *et al.*, 2010). Chez les céphalopodes, des études sont en cours pour obtenir des moyens d'évaluer le bien-être des animaux, notamment en utilisant les patternings de camouflage comme indicateurs des états émotionnels (Naudet, 2018).

### iii. Amélioration des pratiques via l'étude du stress

L'évaluation du stress des espèces aquatiques a pu mener à des importantes découvertes pour s'assurer de leur bien-être, que ce soit pour les conditions d'élevage ou expérimentales.

Chez les poissons zèbres par exemple, l'état de stress va être augmenté lorsqu'ils sont soumis à des manipulations aiguës (Ramsay *et al.*, 2006) ou en cas d'accès visuel à un prédateur (Barcellos *et al.*, 2007). Chez les tilapias du Nil *Oreochromis niloticus*, une forte densité de population et des interactions sociales de dominance entraînent une augmentation du stress (Barcellos *et al.*, 1999) mais un nourrissage autonome permet une réduction des réponses au stress (Endo *et al.*, 2002).

De nombreuses études se sont penchées sur l'étude du stress dû aux manipulations. Chez les crabes *Carcinus maenas*, différentes méthodes de manipulation ont été investiguées et toutes ont engendré des réponses au stress plus ou moins fortes, soulignant le besoin de laisser les animaux au repos au moins 12h dans le bac expérimental avant de procéder à une expérience (Wilson *et al.*, 2021). Des études chez les épinoches à trois épines *Gasterosteus aculeatus*, les brachys évêques *Brachyrhaphis episcopi*, les truites arc-en-ciel et les poissons zèbres se sont penchées sur le stress associé à une manipulation avec une pelle ou avec un filet et ont montré des différences entre les espèces, soulignant l'importance d'adopter des mesures spécifiques à l'espèce étudiée (Brydges *et al.*, 2009 ; Ramsay *et al.*, 2009).

D'autres paramètres de gestion ont été analysés via le prisme de l'étude du stress engendré tels que le transport des individus (Omeji, Apochi & Egwumah, 2017 pour une review) ou la couleur du fond de l'aquarium ainsi que la disponibilité en abris chez les jundias (Barcellos *et al.*, 2009).

L'évaluation du bien-être via l'évaluation du stress chez les espèces aquatiques a ainsi pu mener à des améliorations des pratiques de gestion de ces espèces en laboratoire.

### c. Recommandations pratiques

À l'heure actuelle dans les laboratoires, la médecine vétérinaire utilise plutôt une approche préventive pour s'assurer que tous les animaux soient en bonne santé en adoptant des gestes et des modèles de gestion s'assurant de cette bonne santé (Voipio *et al.*, 2008). Les pratiques zootechniques usuelles sont basées sur des découvertes issues de travaux en recherche fondamentale. À titre d'exemple, des travaux ont montré une forte influence de la température et de la photopériode sur le système immunitaire des poissons et crustacés, portant ainsi l'accent sur une bonne gestion de ces paramètres en laboratoire (Bowden *et al.*, 2007).

Pour aider les professionnels travaillant avec des animaux aquatiques, de nombreuses recommandations pratiques peuvent être trouvées dans la littérature. La plupart de ces recommandations concernent l'aquaculture. Elles vont ainsi insister sur des paramètres telles que la densité de population, qui est une recommandation essentielle, mais qui ne va pas pouvoir être généralisable aux espèces non concernées par l'aquaculture. Cette littérature est plutôt ancienne et foisonnante pour les poissons (Huntingford *et al.*, 2006 ; Ashley, 2007) et commence à se développer pour les céphalopodes et crustacés décapodes. De nombreux agents pathogènes ont ainsi pu être identifiés chez les espèces aquacoles, que ce soient les poissons (Lafferty *et al.*, 2015), les céphalopodes (Pascual, González & Guerra, 2007 ; Gestal *et al.*, 2019) ou chez les crustacés décapodes (de Souza Valente & Wan, 2021).

Ces recommandations sont toutes basées sur de la médecine de population et une approche majoritairement préventive liées aux pratiques de l'aquaculture. En ce qui concerne une éventuelle approche thérapeutique se rapprochant plus de la médecine individuelle chez ces espèces, qui est aussi importante pour la gestion des animaux dédiés à des fins scientifiques, il n'existe à notre connaissance aucun guide pratique pour les crustacés décapodes. Pour les poissons, la médecine individuelle des poissons d'ornement s'est développée ces dernières années et la médecine de laboratoire peut s'appuyer sur cette littérature (Wildgoose, 2001 ; Noga, 2010 ; Roberts, 2012 ; Smith, 2019). Pour les céphalopodes, un seul guide pratique abordant des notions de médecine individuelle a été trouvée (Fiorito *et al.*, 2015).

En ce qui concerne les recommandations spécifiques à l'utilisation des espèces aquatiques en laboratoire, des guides pratiques de référence sont également disponibles (Albus, 2012). Les poissons sont le groupe où il est possible de retrouver le plus d'informations, avec un référentiel largement diffusé par l'AAALAC (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care) (Johansen *et al.*, 2006 ; Jenkins *et al.*, 2014). Hawkins *et al.* (2011) ont par exemple produit des recommandations permettant d'évaluer la sévérité expérimentale

chez les poissons afin d'être en accord avec la directive 2010/63/EU. Quelques recommandations sur la gestion des céphalopodes en laboratoire sont disponibles dans la littérature, dont certaines qui sont apparues avant l'entrée en vigueur de la directive (Moltschaniwskyj *et al.*, 2007 ; Fiorito *et al.*, 2014) mais ces conseils restaient généraux. En 2015, suite à la demande de recommandations spécifiques permettant d'appliquer la directive, une initiative internationale lancée par Cephalopods in Research (CephRes), la Fédération des Associations Européennes de la Science des Animaux de Laboratoire (FELASA) et le groupe Boyd a permis de produire les premiers guides pratiques conséquents et détaillés pour assurer les soins et le bien-être de ces espèces (Fiorito *et al.*, 2015). Il n'existe à notre connaissance aucune recommandation concernant l'utilisation des crustacés en recherche.

Les professionnels des laboratoires peuvent donc s'appuyer sur différentes données pour s'assurer d'une bonne santé et d'un bon état de bien-être des animaux aquatiques en laboratoire. Cependant, ces professionnels sont également confrontés à certains problèmes limitant cette mission.

## 4. Limites majeures de la santé des espèces aquatiques en laboratoire

### a. Manque de connaissances général

De manière générale, il y a un manque de connaissances scientifiques concernant l'éthologie ou la santé des espèces aquatiques par rapport à d'autres espèces comme les mammifères. Ce manque de connaissances peut être visualisé et expliqué sous le prisme d'une interaction entre sciences, société et politique (**Encart 3**).

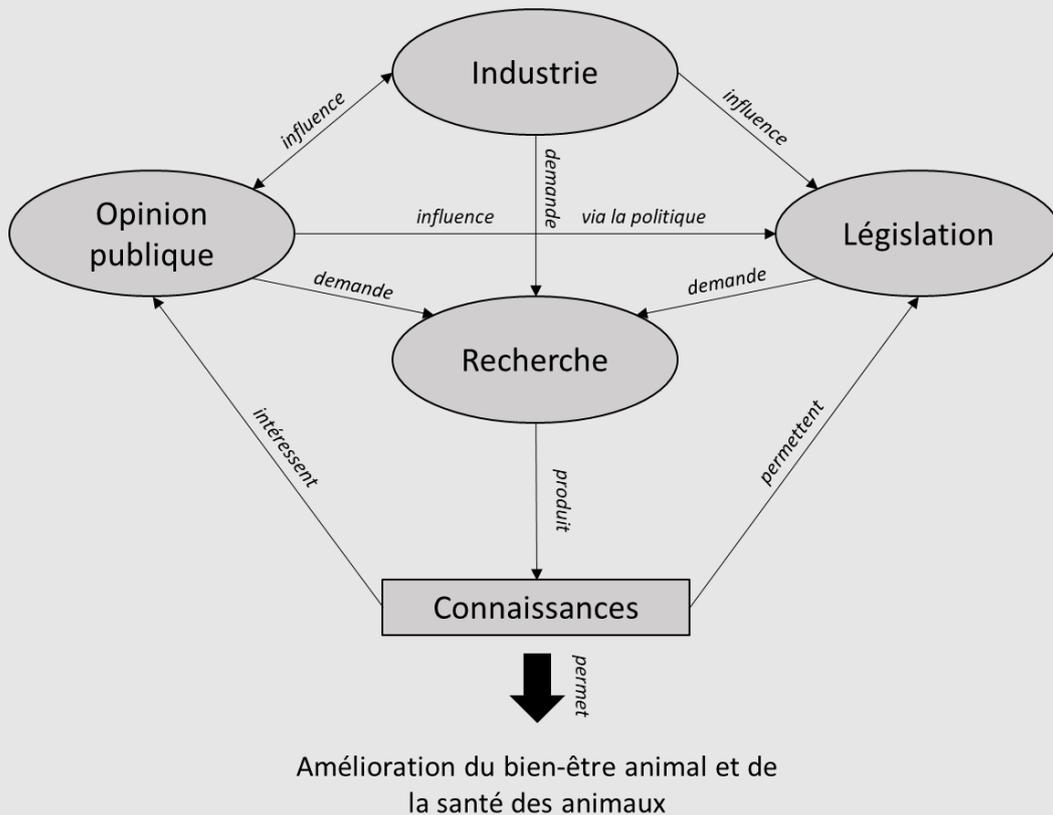
#### **Encart 3. Comment expliquer le manque de connaissances en santé des espèces aquatiques ?**

Nous allons ici essayer d'expliquer de manière simplifiée le manque de connaissances général sur les espèces aquatiques, et en particulier en santé. Il s'agit sûrement d'un procédé complexe dont nous ne saurions explorer toutes les facettes ici. Les principaux moteurs de la recherche sont l'opinion publique, l'industrie, la législation et la recherche en elle-même (**Figure 5**). De nombreux acteurs vont influencer la recherche qui va créer les connaissances nécessaires pour améliorer la santé et le bien-être des animaux (aquatiques dans notre cas).

Le premier acteur est l'**opinion publique**. La société peut être demandeuse de recherche de connaissances par elle-même, parce qu'elle y voit un enjeu éthique par exemple (demande sociétale sur le bien-être animal de plus en plus présente), ou parce qu'elle a été intéressée par des connaissances préexistantes. Une boucle de feedback positif se met alors en place (intérêt sociétal pour des découvertes en comportement d'une espèce qui attire la sympathie de l'opinion publique).

Le deuxième acteur est l'**industrie** qui est très présente pour les espèces aquatiques qui sont avant tout de nos jours considérées comme des ressources de pêche ou de productions aquacoles. Les lobbies aquacoles peuvent financer la recherche pour obtenir des améliorations en bien-être animal, que ce soit pour des raisons éthiques ou d'améliorations

du produit et de leur image. Il faut bien sûr être prudents face à ces financements privés et s'assurer que la science soit toujours conduite de manière objective et transparente.



**Figure 5 : Mécanisme de recherche de connaissances appliqué aux espèces aquatiques.**  
(Source : Maëlan Tomasek)

Le troisième acteur est la **législation** qui va encourager la recherche de deux manières : d'abord de manière rétroactive en obligeant la recherche à assurer le bien-être et la santé des animaux et donc en l'obligeant à acquérir des connaissances pour réaliser ce but, mais aussi de manière proactive en demandant des connaissances à la recherche afin de rédiger les textes de lois les plus adaptés possible. La directive européenne demande ainsi aux pays membres de l'UE de financer des travaux de recherche sur les 3R. Cependant, le plus souvent, ce sont les acteurs institutionnels et les associations professionnelles qui sont à l'origine de ces travaux.

Enfin, le dernier acteur est la **recherche** en elle-même, et particulièrement la recherche fondamentale dont le but est simplement l'obtention de connaissances. Certaines espèces animales ont permis des avancées scientifiques et techniques majeures et rencontrent ainsi beaucoup de succès au sein de la communauté scientifique. De nombreuses structures vont alors travailler avec ces modèles et créer de nouvelles connaissances permettant l'amélioration de l'élevage de ces espèces voire la création de groupes de travail dédiés. Six espèces de poissons peuvent ainsi être retrouvées sur le site du réseau EFOR (Réseau d'Études Fonctionnelles chez les Organismes modèles) : le tétra mexicain *Astyanax mexicanus*, le bar commun *Dicentrarchus labrax*, la lamproie marine *Petromyzon marinus*,

le medaka *Oryzias latipes*, le poisson zèbre *Danio rerio* et la petite roussette *Scyliorhinus canicula*. Aucune espèce de céphalopode ou de décapode n'est recensée pour l'instant sur ce site.

Tous ces acteurs sont bien sûr également en interaction. L'opinion publique va pouvoir influencer la législation en vigueur en demandant l'instauration de lois et réglementations qui sont conformes à leurs attentes via leurs élus. L'opinion publique peut également influencer l'industrie en augmentant la demande pour des produits provenant de sources responsables. L'industrie peut à son tour influencer l'opinion publique par l'action des lobbies qui vont pouvoir chercher à désintéresser la société des problématiques de bien-être et de santé. Les lobbies vont également bien entendu influencer la législation car ils représentent un poids très important dans la sphère politique.

Pour obtenir une amélioration du bien-être et de la santé de certaines espèces animales, il faut donc acquérir des connaissances qui sont créées à la demande de ces quatre acteurs principaux. Il est difficile pour les espèces aquatiques d'intéresser l'opinion publique, qui est pourtant un acteur primordial, ce qui pourrait expliquer le manque de connaissances général en espèces aquatiques.

Le manque de connaissances entraîne une limitation de l'amélioration des pratiques permettant d'assurer le bien-être de ces espèces. Les recommandations de la directive européenne ou des guides pratiques sont souvent obsolètes en laboratoire car elles s'appuient sur des recherches réalisées en aquaculture. Par exemple, la directive impose uniquement trois méthodes d'euthanasie chez les poissons (surdosage anesthésique, commotion à la tête ou étourdissement électrique). Cependant, ces méthodes sont peu adaptées pour des espèces de petits formats comme le poisson zèbre chez qui il a été discuté que la meilleure méthode d'euthanasie serait le refroidissement rapide (Köhler *et al.*, 2017). Des autorisations gouvernementales peuvent désormais être obtenues par les laboratoires pour utiliser cette méthode d'euthanasie, en attendant qu'elle fasse son apparition dans la loi.

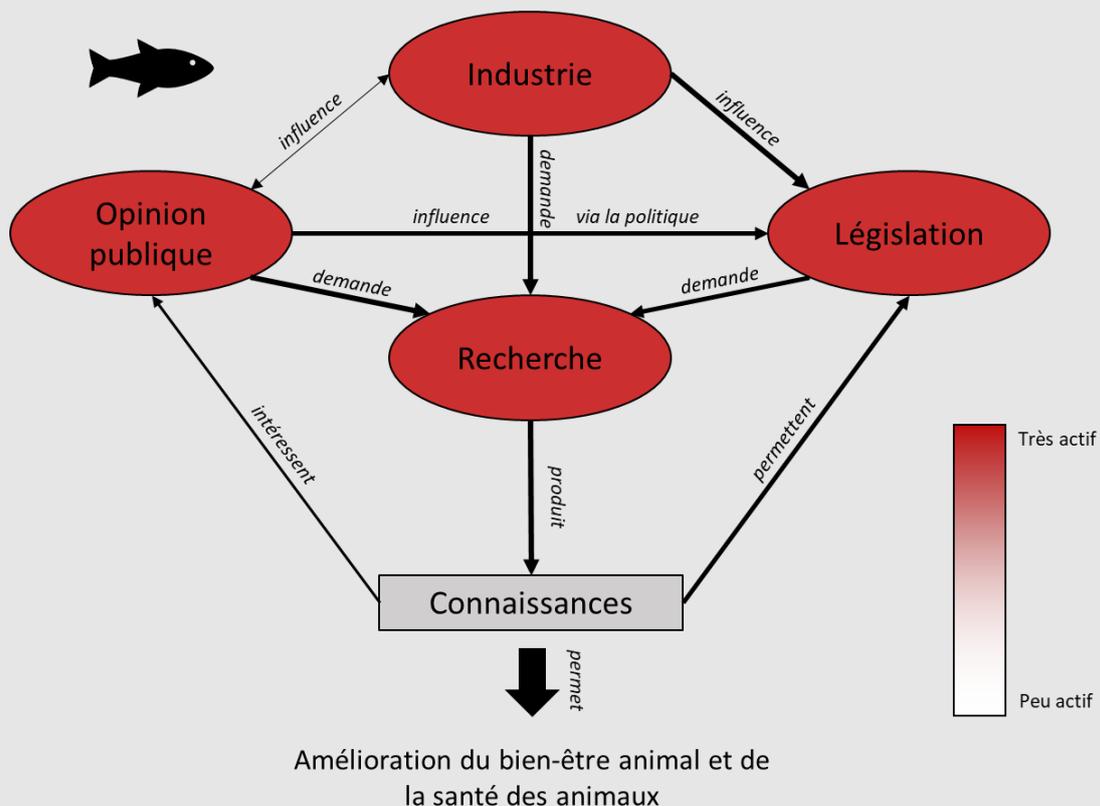
De plus, poissons, céphalopodes et crustacés ne reçoivent pas le même intérêt et cela impacte les moyens mis à disposition pour s'assurer d'un bon état de bien-être ou de santé dans les laboratoires de chacun de ces groupes (**Encart 4**).

#### **Encart 4. Evolution historique des connaissances pour nos trois groupes d'étude : poissons, céphalopodes, décapodes**

Nos trois groupes d'études forment en réalité un gradient de connaissances et de réglementations : du maximum de connaissances et de réglementations pour les poissons au minimum de connaissances et de réglementations pour les décapodes, les céphalopodes se trouvant au milieu. Nous allons essayer de décrypter les raisons de ces déséquilibres en connaissances et en réglementations en nous aidant du cadre théorique simplifié détaillé dans l'**Encart 3**.

### Poissons :

Les poissons sont présents dans certaines législations depuis le début du XX<sup>ème</sup> siècle car les lois cherchaient dans un souci de simplification à protéger « tous les vertébrés ». Cependant, il est évident que ces lois ont souvent été ignorées pour les poissons chez lesquels des pratiques inenvisageables pour d'autres espèces terrestres étaient, et sont encore, acceptées (Wadiwel, 2016 ; Kristiansen and Bracke, 2020). L'acteur réellement important dans la demande d'amélioration des pratiques a donc été l'opinion publique, via des groupes de protection animale qui ont commencé à se préoccuper du bien-être des poissons d'aquaculture et pêchés au début des années 1990 (Kristiansen & Bracke, 2020). De nombreuses recherches ont été demandées par l'opinion publique et par l'industrie afin de savoir si les poissons étaient des êtres sentients et capables de ressentir de la douleur. Ce débat est étrangement encore discuté au sein de la communauté scientifique et est pour beaucoup insolvable, mais il est le reflet du lien palpable entre science, société et politique car il pose d'importants problèmes moraux et questionne de nombreuses pratiques courantes, telles que la pêche, qui sont indubitablement sources de souffrance (Vettese, Franks & Jacquet, 2020). Pour la recherche, au niveau de la législation, ce débat a été tranché par la directive 2010/63/EU sur la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques qui intègre toutes les espèces de poissons. Cette législation étant encore très générale, les autorités poussent la recherche à acquérir les connaissances permettant de maximiser le bien-être et la santé des poissons.

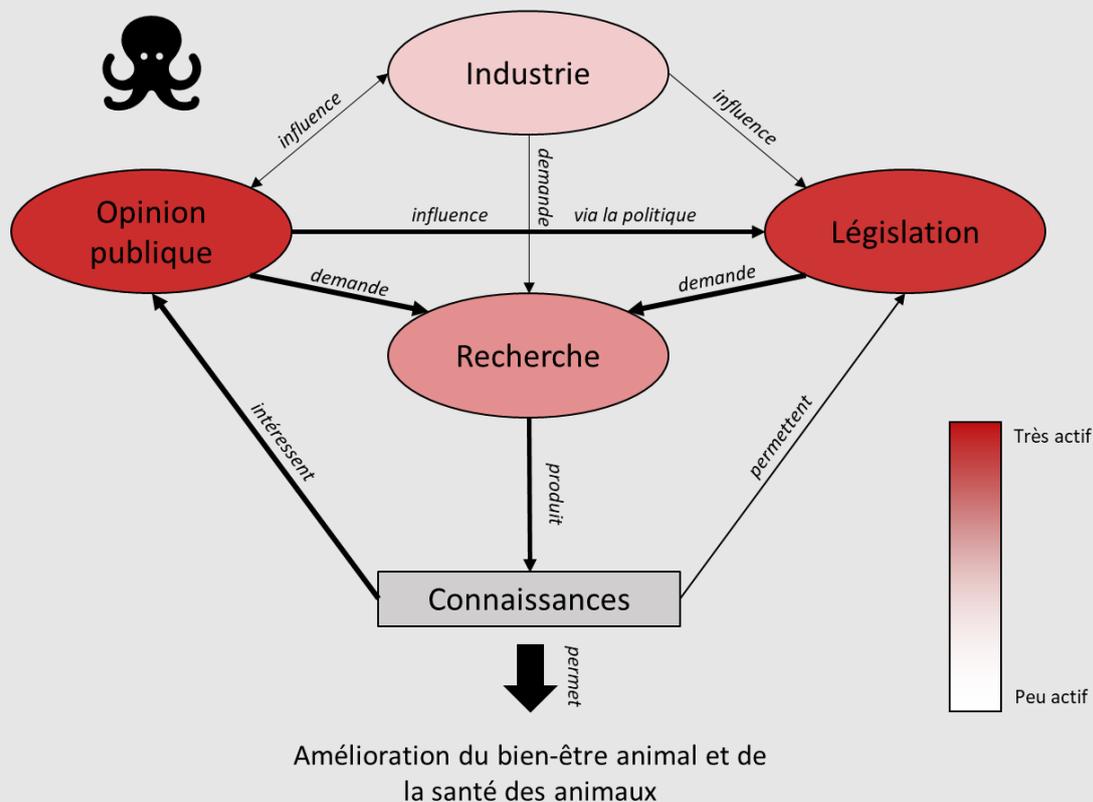


**Figure 6 : Evolution des connaissances pour les poissons.** L'épaisseur des flèches est proportionnelle à l'activité des différentes interactions entre les acteurs. (Source : Maëlan Tomasek)

Pour les poissons, les quatre acteurs du mécanisme d'acquisition des connaissances sont très actifs, ce qui peut expliquer qu'il s'agit du groupe récoltant le plus de connaissances.

Céphalopodes :

Les céphalopodes ont d'abord été un groupe d'intérêt pour la recherche en elle-même. De nombreuses et fascinantes découvertes ont été réalisées sur les capacités comportementales et cognitives de ces invertébrés. Ils apparaissent pour la première fois dans la législation au Royaume-Uni en 1993 dans l'*Animals (Scientific Procedures) Act* qui inclut seulement une espèce de céphalopodes : la pieuvre commune *Octopus vulgaris*. Au début des années 2000, les découvertes scientifiques atteignent l'opinion publique qui se prend d'affection pour ces espèces, en témoigne par exemple le nombre grandissant de séries et documentaires sur ces espèces, ou l'engouement pour « Paul le Poulpe » lors de la coupe du monde de football 2010. Suite à cet enthousiasme pour ces espèces, les autorités ont décidé d'inclure « tous les céphalopodes vivants » dans la directive 2010/63/EU. Cette entrée dans la législation a bousculé les pratiques et les demandes en matière de bien-être et de santé d'espèces dont les connaissances étaient jusqu'alors peu nombreuses. L'industrie aquacole pour les céphalopodes existe mais est plutôt minoritaire et son poids est limité.

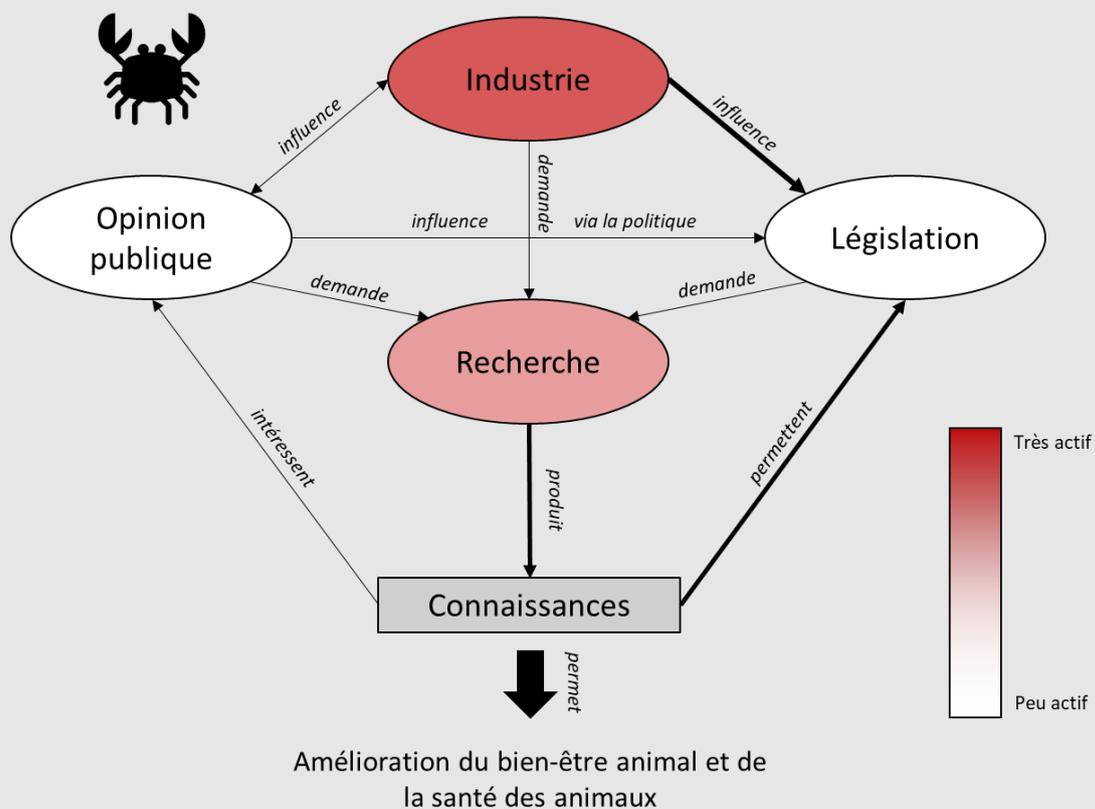


**Figure 7 : Evolution des connaissances pour les céphalopodes.** L'épaisseur des flèches est proportionnelle à l'activité des différentes interactions entre les acteurs. (Source : Maëlan Tomasek)

Le moteur principal de recherche de connaissances pour les céphalopodes est donc plutôt la législation, qui impose une garantie de leur bien-être et de leur santé, mais qui nécessite donc l'acquisition de beaucoup plus de connaissances pour s'en assurer.

Décapodes :

Tout comme les céphalopodes, les décapodes ont d'abord intéressé la recherche en elle-même. L'exploration de la sentience et de la douleur chez ces espèces ont été traitées comme une question scientifique à part entière plutôt que comme une véritable demande sociétale et législative, mais les arguments envers l'existence de la douleur se sont accumulés (Elwood, Barr & Patterson, 2009 ; Carere & Mather, 2019). Ces arguments ont fait que les décapodes ont été inclus dans la première version de la directive 2010/63/EU mais les parlementaires ont finalement décidé de rejeter ces espèces de la directive du fait du manque d'informations sur leurs capacités cognitives, leur complexité neurologique ou leur flexibilité comportementale. Un nombre conséquent de ces connaissances avait pourtant été apporté aux députés européens (Gherardi, 2009). Ce refus est également sûrement lié au manque d'intérêt de l'opinion publique envers ces espèces, et aussi par la présence de l'industrie aquacole qui peut également faire pression de son côté.



**Figure 8 : Evolution des connaissances pour les décapodes.** L'épaisseur des flèches est proportionnelle à l'activité des différentes interactions entre les acteurs. (Source : Maëlan Tomasek)

Il peut être intéressant ici de s'attarder rapidement sur les raisons de ce manque de considération envers ces espèces. Mikhalevich & Powell (2020) proposent quatre facteurs

expliquant ce phénomène, qui peuvent bien entendu également s'appliquer pour d'autres classes de vertébrés comme les poissons ou les reptiles :

- une lecture progressiste persistante de l'évolution qui voit les invertébrés comme une classe "inférieure" ;
- la supposition *a priori* que des cerveaux de taille réduite ne peuvent pas supporter une conscience ou des capacités cognitives sophistiquées ;
- des biais cognitifs affectifs humains : un manque d'empathie, une réponse de dégoût pour la plupart des espèces ou une justification morale ;
- un équilibre inapproprié entre incertitude scientifique et risque moral.

Il résulte de ces phénomènes que les questions de santé et de bien-être chez les espèces aquatiques, qui sont si différentes de nous, restent ainsi très peu explorées, en particulier chez les décapodes crustacés. Très récemment, certains pays ont interdit l'ébouillantage vivant des crustacés, ce qui pourrait être un premier pas vers une plus grande considération du bien-être de ces espèces.

Bilan :

Il existe donc un déséquilibre entre les connaissances et les attentes réglementaires entre les poissons, les céphalopodes et les décapodes. Les poissons sont entrés dans le mécanisme d'acquisition des connaissances via l'opinion publique qui en a fait la demande, alors que les connaissances pour les céphalopodes sont plutôt demandées par la législation. On pourrait voir dans ce gradient entre nos trois groupes d'étude un gradient temporel. Dans quelques années, les connaissances et les régulations concernant les céphalopodes seront peut-être au même niveau que celles concernant les poissons de nos jours, et les décapodes seront peut-être entrés dans la législation qui, à l'instar des céphalopodes, aura demandé des recherches actives pour améliorer le bien-être et la santé de ces espèces.

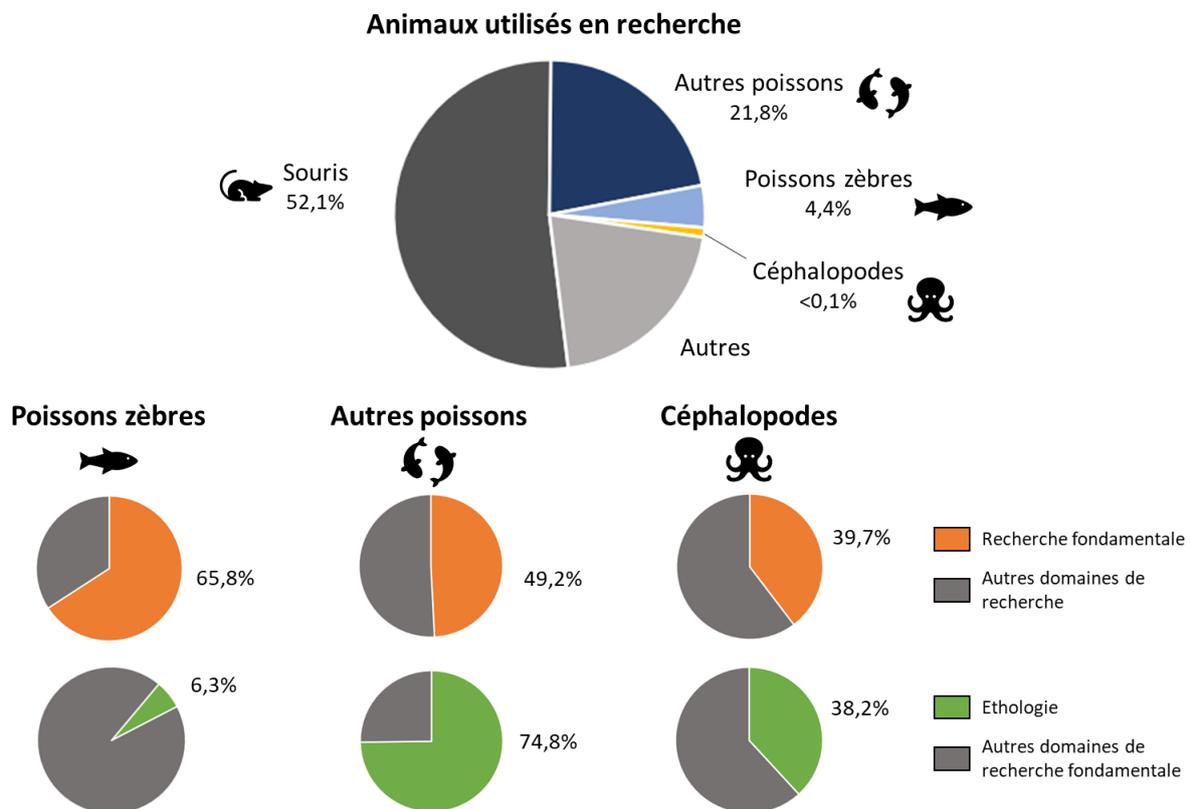
En plus de ce cadre de manque de connaissances général, s'ajoute la difficulté que les espèces étudiées en laboratoire sont très diverses et ne sauraient toutes être gérées de la même manière.

**b. Diversité des espèces en laboratoire**

Comme nous l'avons vu, la législation et les guides pratiques s'affichent comme des « recommandations pour l'utilisation des poissons en recherche » ou des « recommandations pour l'utilisation des céphalopodes en recherche ». Cependant, il est impossible d'obtenir des recommandations vraiment précises sur toutes les espèces représentées par ces termes. Il existe par exemple environ 25000 espèces de poissons, soit la moitié des vertébrés sur Terre, évoluant depuis 450 millions d'années, et qui présentent ainsi une diversité inouïe de physiologies, de génomes, et donc de comportements ou mécanismes cognitifs particuliers (Venkatesh, 2003). Les "poissons" ne sont pas un groupe taxonomique valable : les thons sont bien plus proches phylogénétiquement de nous que des requins, et les coelacanthes, ces poissons à l'allure préhistorique, sont plus proches de nous que des thons (Allen, 2013). De

même, il existe environ 700 espèces de céphalopodes (Fiorito *et al.*, 2014) et 163 d'entre elles ont été utilisées à des fins scientifiques en Europe entre 2005 et 2011 (Smith *et al.*, 2013). Quant aux crustacés décapodes, il en existe plus de 15 000 espèces (De Grave *et al.*, 2009). La diversité des espèces étudiées se reflète obligatoirement par une diversité de comportements, caractéristiques physiologiques, capacités cognitives et besoins. Il est une fois de plus plutôt délicat de tirer des conclusions ou des conseils généraux concernant l'ensemble de ces groupes (Moltschaniwskyj *et al.*, 2007).

La recherche comportementale et cognitive est d'autant plus affectée par cette problématique car elle utilise une très grande diversité d'espèces, comparée à d'autres champs de recherche qui n'utilisent que très peu de modèles animaux, à l'instar du poisson zèbre *Danio rerio* en biologie médicale (**Figure 9**). En laboratoire, on retrouvera le plus souvent pour des aspects pratiques évidents des petites espèces comme des cichlidés, des épinoches ou des labres pour les poissons, ainsi que des seiches communes pour les céphalopodes, mais d'autres espèces plus grandes peuvent être étudiées, notamment certains élastomobranques comme les requins ou les raies (Bueno-Guerra, 2018).



**Figure 9 : Utilisation des espèces aquatiques en recherche en Union Européenne en 2018.** Part des espèces aquatiques dans les animaux utilisés dans tous les domaines de recherche (haut). Part de chaque groupe d'espèces aquatiques qui sont utilisées en recherche pour la recherche fondamentale (milieu). Part de chaque groupe d'espèces aquatiques qui sont utilisées en recherche fondamentale pour la recherche en éthologie (bas). Les crustacés décapodes ne sont pas présents dans les chiffres ALURES car non concernés par la directive 2010/63/EU. (D'après les chiffres ALURES de la Commission Européenne, 2021)

Toutes ces espèces ont leurs propres particularités et leur gestion en laboratoire se doit donc d'être adaptée. Certaines procédures vétérinaires vont être impactées par ces différences. Chez les crustacés par exemple, le crabe bleu *Callinectes sapidus*, l'écrevisse de Louisiane *Procambarus clarkii* et la crevette à pattes blanches *Litopenaeus vannamei* ne vont pas réagir de la même manière à une euthanasie par refroidissement rapide ou par électrochoc et il convient de choisir la méthode garantissant le minimum de détresse à chaque espèce (Weineck *et al.*, 2018). Chez les poissons, des travaux ont montré des différences dans le comportement d'évitement de certaines molécules anesthésiques chez des espèces largement utilisées à des fins scientifiques comme le poisson zèbre ou la carpe (Readman *et al.*, 2017).

Aujourd'hui, les pratiques de gestion en santé et bien-être des animaux commencent de plus en plus à adopter une approche espèce-spécifique. En effet, chaque espèce possède des besoins différents et il est important de bien connaître l'histoire naturelle d'une espèce pour s'assurer de lui prodiguer les meilleurs soins (Lee, Paull & Tyler, 2022). Ainsi en 2019, la Société Européenne des Modèles Poissons en Biologie et en Médecine (EuFishBioMed) et la FELASA se sont associées pour produire des recommandations concernant l'hébergement et la gestion des poissons zèbres en laboratoire (Aleström *et al.*, 2020). Cependant, le poisson zèbre n'est pas du tout une espèce majoritaire en recherche comportementale et cognitive, ce qui rend ce guide pratique peu utile pour ce domaine de recherche (**Figure 9**).

Comment alors, dans un contexte de manque général de connaissances en santé des espèces aquatiques, s'assurer de la santé et du bien-être d'une telle diversité d'espèces présentes en laboratoire ? Pour répondre à cette question, nous avons été à la rencontre des professionnels travaillant avec ces animaux afin d'obtenir un aperçu des pratiques réalisées sur le terrain.

## II. Gestion de la santé des espèces aquatiques en laboratoire en pratique : interviews avec des professionnels européens

### 1. Introduction

---

Les professionnels travaillant avec les animaux aquatiques en laboratoire sont donc confrontés à plusieurs obstacles comme la difficulté d'avoir des recommandations spécifiques pour la diversité des espèces étudiées ; c'est d'autant plus le cas en éthologie qui utilise moins d'organismes modèles. Il est bien entendu à noter que ces difficultés ne sont pas limitées aux espèces aquatiques mais à toutes les espèces non conventionnelles utilisées en laboratoire.

Comment les professionnels peuvent-ils faire face à ces difficultés ? Les pratiques sur le terrain sont-elles diverses ou unifiées ? Notre expérience personnelle dans le cadre de plusieurs stages en recherche cognitive chez les poissons ou les céphalopodes ont permis d'apporter des éléments de réponse à ces questions, mais une grande partie est restée sans réponse. Les enseignements vétérinaires ont par la suite apporté un éclairage nouveau à ces questionnements en présentant la structuration professionnelle des activités relatives aux animaux. Plusieurs professionnels d'horizons différents travaillent en effet avec les animaux utilisés à des fins scientifiques, et nous ne saurions apporter une investigation la plus complète possible sur l'abord de la santé de ces animaux sans s'intéresser à toutes les professions gravitant autour d'eux.

Dans le cadre de cette thèse, nous avons cherché à obtenir les opinions de différents professionnels travaillant avec les animaux aquatiques (poissons, céphalopodes et décapodes) destinés à des fins scientifiques. Nous avons ainsi réalisé des interviews de chercheurs, vétérinaires, soigneurs animaliers et techniciens de laboratoire, rencontrés auparavant au cours de différentes occasions ou contactés pour la première fois dans le cadre de ce travail. Pour simplifier la rédaction, ont été qualifiés ici de « chercheurs » les concepteurs de projets de recherche ayant suivi une formation universitaire prioritairement destinée à la recherche scientifique, de « vétérinaires » les personnes ayant cette formation et exerçant à ce titre, de « techniciens » les personnes qui appliquent les procédures expérimentales et de « soigneurs » les personnes qui assurent les soins aux animaux et la maintenance de l'animalerie. Il va sans dire que les formations et les qualifications de ces chercheurs, vétérinaires, techniciens et soigneurs sont très variées, et qu'ils exercent souvent plusieurs fonctions qui se recoupent. Ces professionnels, et d'autres qui sont moins au contact des animaux, participent aux projets et y ont des responsabilités opérationnelles ou scientifiques.

Les interviews sont des méthodes d'obtention d'informations très prisées, notamment en études sociologiques (Kvale, 1996). De nombreux types d'interviews existent : les trois principales sont les interviews structurées, les interviews non-structurées et les interviews semi-structurées (Rowley, 2012). Les interviews structurées sont composées d'un grand nombre de questions à réponses courtes et dans un ordre précis. Dans les interviews non-structurées, l'interviewé(e) parle d'un thème général et l'interviewer adapte ses questions à

la discussion. Enfin, une interview semi-structurée est composée de six à douze questions principales pouvant chacune avoir des sous-questions pour s'assurer que l'interviewé explore suffisamment les problématiques principales. Ce dernier type d'interview permet de laisser la parole à l'interviewé tout en s'assurant de récolter toutes les informations nécessaires.

La réalisation d'interviews nécessite un travail qui commence bien avant les interviews proprement dites (Rabionet, 2011). En amont, il faut choisir les interviewés, rédiger le protocole d'interview, rédiger le mail de premier contact... Il est également important de réfléchir aux problématiques éthiques de ce genre de projet (Kvale, 1996).

## 2. Matériel et méthodes

---

Douze professionnels travaillant avec les espèces aquatiques en laboratoire de recherche comportementale et cognitive ont été interviewés entre le 9 février 2022 et le 21 mars 2022 : 4 chercheurs, 4 vétérinaires et 4 techniciens ou soigneurs animaliers (**Tableau I**). Nous avons choisi d'interviewer un faible nombre de professionnels travaillant avec les espèces aquatiques car notre intérêt était porté sur des données qualitatives et non quantitatives, selon la méthode des interviews semi-structurées (Rowley, 2012). Une place importante a été accordée aux opinions, anecdotes et expériences personnelles des participants, en s'inspirant de la méthode narrative de l'association libre (Hollway & Jefferson, 2008).

Trois trames d'interview ont été écrites, correspondant aux trois corps de métier (**Annexes 4 à 6**). Les trois abordent les mêmes thèmes et sont ainsi en de nombreux points similaires, mais l'accent est parfois porté sur différents domaines en fonction des professions : les problématiques liées à l'utilisation des animaux dans les protocoles de recherche pour les chercheurs, les problématiques de santé pour les vétérinaires, les rôles et fonctions des soigneurs et techniciens pour ces derniers. Les interviewés ont été contactés soit par mail soit par contact direct lorsque c'était possible. Les interviews ont duré de 30 à 70 minutes en fonction du temps disponible des interviewés, et se sont déroulées soit par visioconférence, soit par entretien direct lorsque c'était possible. Les interviews se sont déroulées en français ou en anglais. Elles ont été enregistrées si l'interviewé avait donné son accord, afin de faciliter leur analyse *a posteriori*. Seul un interviewé n'a pas souhaité être enregistré. Chaque interviewé a reçu dans les jours suivants un compte-rendu détaillé de l'entretien et avait la possibilité d'ajouter, supprimer ou modifier ses propos. L'anonymat a été proposé à tous les participants mais aucun ne l'a souhaité. Un compte-rendu général des résultats, rédigé en anglais, a été envoyé à tous les participants et un exemplaire de cette thèse vétérinaire sera également envoyé aux participants francophones.

Les interviews ont ensuite été analysées et les résultats sont décrits ci-après en 6 catégories : rôles et responsabilités de chacun des acteurs, santé et validité expérimentale en recherche comportementale et cognitive, santé des espèces aquatiques de laboratoire en pratique, législation, état et acquisition de connaissances en santé des espèces aquatiques, et perceptions sociétales et scientifiques de la recherche en espèces aquatiques. Pour faciliter la compréhension, les résultats sont discutés directement dans chaque partie et non dans une partie séparée.

**Tableau I : Professionnels de laboratoire travaillant avec des espèces aquatiques interviewés dans le cadre de cette thèse**

Nom	Poste	Espèces
<b>Chercheurs</b>		
Anne-Sophie Darmaillacq	Chercheuse à l'Université de Caen, France	Céphalopodes (seiche commune <i>Sepia officinalis</i> , embryons de calmars <i>Sepiotheutis</i> et <i>Loligo vulgaris</i> dans leurs œufs)
François-Xavier Dechaume-Moncharmont	Chercheur à l'Université de Lyon, France	Poissons (gobies, carassins <i>Carassius carassius</i> , aprons du Rhône <i>Zingel asper</i> )
Alex Jordan	Chercheur au Max Planck Institute for Animal Behaviour de Konstanz, Allemagne	Poissons (cichlidés de la famille des Lamprologinés, Ectodinés et Haplochrominés)
Robert Elwood	Chercheur émérite à l'Université Queens de Belfast, Royaume-Uni	Crustacés décapodes (crabe dormeur <i>Cancer pagurus</i> , crabe enragé <i>Carcinus maenas</i> , bernard-l'ermite <i>Pagurus bernhardus</i> , crevette rose <i>Palaemon elegans</i> )
<b>Vétérinaires</b>		
Inger Müller	Vétérinaire au Max Planck Institute for Animal Behaviour de Konstanz, Allemagne	Poissons (poissons zèbres, cichlidés) Oiseaux
Daniel Zuniga	Vétérinaire au Max Planck Institute for Animal Behaviour de Konstanz, Allemagne	Poissons (poissons zèbres, cichlidés) Oiseaux
Emmanuel Leguay	Vétérinaire au cabinet VetoFish, France	Toutes espèces aquatiques (vertébrés et invertébrés) sauf mammifères marins
Jean-Philippe Mocho	Vétérinaire et créateur de 3RVet, Royaume-Uni, membre du comité exécutif et meneur de groupes de travaux de la FELASA	Poissons, amphibiens, crustacés décapodes Autres espèces de laboratoire dont rongeurs
<b>Techniciens, soigneurs animaliers</b>		
Bastian Stadelhofer	Soigneur animalier au Max Planck Institute for Animal Behaviour de Konstanz, Allemagne	Poissons (cichlidés, poissons zèbres, épinoches, brochets <i>Esox lucius</i> , poissons rouges <i>Carassius auratus</i> , danionellas <i>Danionella translucida</i> ...)
Angéline Clair	Technicienne à l'animalerie de l'Université Lyon 1	Poissons (aprons du Rhône, gobies...) Amphibiens, reptiles, rongeurs, lagomorphes, ansériformes...
Laëtitia Avery	Technicienne à l'animalerie de l'Université Lyon 1	Poissons (aprons du Rhône, gobies...) Amphibiens, reptiles, rongeurs, lagomorphes, ansériformes...
Justine Sigaud	Technicienne à l'animalerie de l'Université Lyon 1	Poissons (aprons du Rhône, gobies...) Amphibiens, reptiles, rongeurs, lagomorphes, ansériformes...

### 3. Rôles et responsabilités de chacun des acteurs

---

#### a. Informations préalables : rôles possibles de chacun des acteurs

##### i. Chercheurs

Les chercheurs sont les utilisateurs des animaux. Ce ne sont souvent pas eux les détenteurs des animaux mais le directeur de l'établissement de recherche. Cela peut être source de difficulté dans les prises de décision concernant la santé des animaux, car les chercheurs n'en sont pas les propriétaires.

##### ii. Vétérinaires

Selon l'article 25 de la directive 2010/63/EU, chaque laboratoire doit employer un vétérinaire désigné possédant une expertise en médecine des animaux de laboratoire ou un expert plus qualifié si cela est plus approprié. Le vétérinaire a un rôle de conseil auprès de la SBEA (Structure chargée du Bien-Être Animal), et non pas de prise de décision (Voipio *et al.*, 2008), ce qui peut également être source de difficultés. Les vétérinaires ont l'obligation professionnelle, légale et éthique de protéger la santé et le bien-être des animaux. Ils se doivent de maintenir un niveau élevé de médecine via une éducation et un entraînement continus, ainsi que des qualifications en médecine des animaux destinés à des fins scientifiques. Il existe plus de 1 000 vétérinaires travaillant dans ce secteur en Europe (Poirier *et al.*, 2015).

Chaque établissement est libre d'organiser ses services vétérinaires comme il le souhaite. Un vétérinaire peut ainsi être employé à temps partiel ou à temps plein, mais la directive oblige une disponibilité de soins à toute heure (Poirier *et al.*, 2015). Les rôles et responsabilités du vétérinaire sont donc variés selon les établissements (**Tableau II**). Les rôles prépondérants des vétérinaires sont le monitoring de la santé des animaux, la formation du personnel, et la participation aux comités d'éthique (Poirier *et al.*, 2015).

Le vétérinaire est fortement conseillé de créer un programme de soins vétérinaires qui doit être constamment vérifié et mis à jour (Voipio *et al.*, 2008 ; Poirier *et al.*, 2015). Les éléments de ce programme peuvent être réalisés par du personnel formé autre que le vétérinaire. Les éléments de ce programme sont très divers et régulent le mouvement des animaux, la gestion et les soins des animaux, l'évaluation du bien-être, le contrôle et la gestion des maladies, l'usage des médicaments, la reconnaissance et l'allègement de la douleur, souffrance ou détresse, l'utilisation des modèles animaux, les interventions chirurgicales et non-chirurgicales, l'anesthésie et l'analgésie, l'euthanasie, la mise en pratique des 3R ainsi que l'organisation des visites de routine (Poirier *et al.*, 2015).

Il est important de souligner de nouveau le rôle de conseiller du vétérinaire. Ainsi, il est requis que le vétérinaire désigné fasse partie de la cellule Bien-Être Animal de la structure, et il est souhaitable qu'il en soit le co-animateur avec le responsable du bien-être animal en titre dans l'établissement s'il n'est pas un membre permanent (Poirier *et al.*, 2015). Il est également requis qu'un vétérinaire, qui peut être différent du vétérinaire désigné de l'établissement, fasse partie du comité d'éthique évaluant les projets de recherche (Voipio *et al.*, 2008 ; Poirier *et al.*, 2015).

**Tableau II : Rôles des vétérinaires désignés d'un laboratoire de recherche animale**

Rôle	Description
Monitoring de la santé	Être en charge ou conseiller sur le maintien du meilleur état de santé et de bien-être possible des animaux, conception et mise en œuvre du programme sanitaire et habilitation sanitaire en France
Formation du personnel	Former de manière théorique et pratique le personnel en contact avec les animaux
Comité d'éthique	Siéger au comité d'éthique afin de conseiller sur les demandes d'autorisations de projets de recherche
Gestion des installations	Conseiller sur les aspects pratiques des installations (choix et maintenance des équipements) via le prisme de la santé et du bien-être animal
<i>Projet de recherche</i>	<i>Être en charge ou participer à un projet de recherche</i>
Sécurité et santé professionnelle	Contribuer à l'évaluation et à la prévention des risques (surtout allergies, infections et blessures (Voipio et al., 2008)), en tant que conseiller auprès du responsable Hygiène & Sécurité
<i>Accord avec la législation</i>	<i>S'assurer que la structure et les pratiques soit en accord avec la législation en vigueur dans le pays</i>

Les rôles sont classés par ordre de fréquence dans les laboratoires, selon une enquête réalisée en 2012. Les rôles en italique sont des missions qui ne sont pas des missions du vétérinaire désigné indiquées dans la législation mais que de nombreux vétérinaires occupent car sont également concepteurs de projets de recherche ou directeurs d'établissement. (D'après Poirier et al., 2015)

Le vétérinaire de laboratoire a le devoir d'être correctement formé. Il doit suivre une formation spécialisée en animaux de laboratoire après avoir obtenu son Diplôme de Médecine Vétérinaire. De plus, il peut et se doit de suivre des formations qualifiantes supplémentaires. Il devrait également être formé en principes de recherche scientifique afin de pouvoir correctement évaluer les projets de recherche. Enfin, une formation en management et gestion d'équipe est fortement souhaitée car le vétérinaire participe à la formation du personnel en contact avec les animaux. Malheureusement, il est important de noter que cette

formation continue peut être limitée du fait des contraintes temporelles et budgétaires des structures de recherche (Poirier *et al.*, 2015).

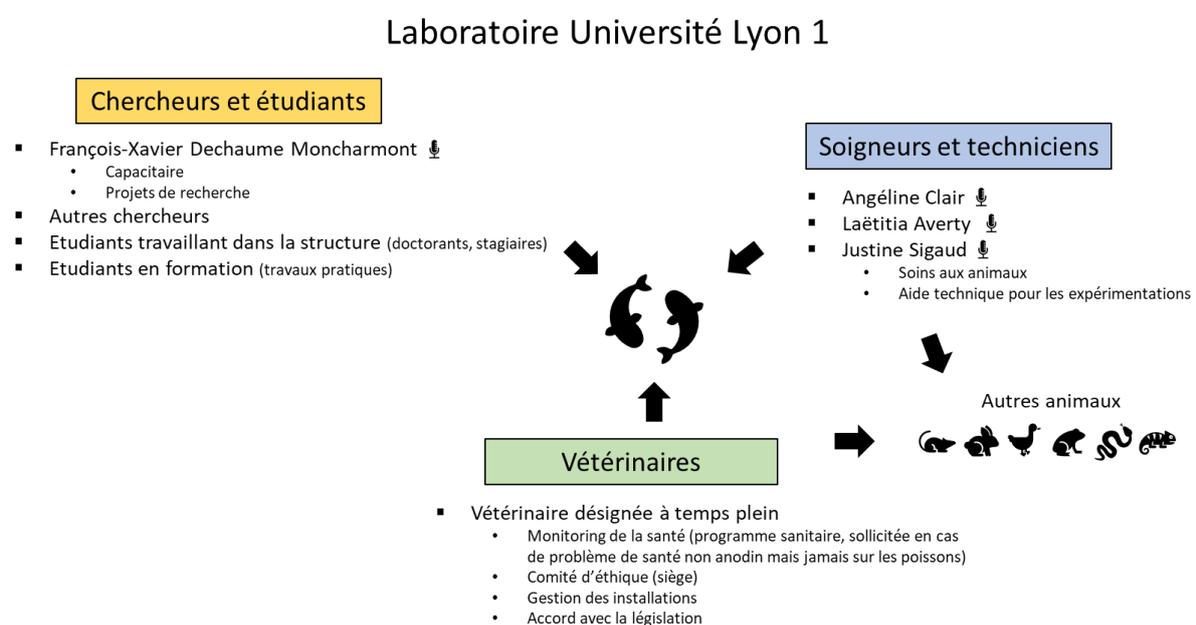
Enfin, un rôle essentiel et non négligeable du vétérinaire est sa communication. Souvent, les rôles et responsabilités de chacun sont confus et des fonctions peuvent se superposer entre professionnels (Voipio *et al.*, 2008). La communication est alors primordiale pour une bonne organisation des pratiques. Le vétérinaire peut être à l'interface entre de multiples interlocuteurs : le ou la responsable de l'accord avec la législation, la ou les personnes responsables de la supervision du bien-être et des soins portés aux animaux, la cellule Bien-Être Animal, le personnel en contact avec les animaux, les chercheurs porteurs de projets ou les possibles supérieurs vétérinaires (Poirier *et al.*, 2015). La communication avec le personnel en contact avec les animaux est primordiale, notamment la communication avec les chercheurs qui est très importante.

### iii. Soigneurs et techniciens

Les soigneurs animaliers et techniciens de laboratoire ont pour missions d'assurer les soins quotidiens aux animaux, de réaliser l'évaluation quotidienne de santé des animaux, et sont également source de précieux conseils car ils sont quotidiennement au contact des animaux. Les techniciens peuvent également aider les chercheurs pour les expérimentations en réalisant divers gestes techniques (prises de sang, chirurgies...).

#### b. Présentation des structures et des interviewés

Lors de nos interviews, nous avons pu rencontrer des professionnels travaillant dans différents laboratoires. La composition des équipes de chacun de ces laboratoires variait, ainsi que les rôles et responsabilités de chacun au sein de ces structures (**Figure 10**).



## Laboratoire Max Planck Institute, Konstanz

### Chercheurs et étudiants

- Alex Jordan 
  - Capacitaire
  - Projets de recherche
- Etudiants travaillant dans la structure (doctorants, stagiaires)

### Soigneurs et techniciens

- Soigneur en chef : Bastian Stadelhofer 
- Autres soigneurs (3)
  - Soins aux animaux
  - Conseils techniques pour les expérimentations



### Vétérinaires

- Vétérinaires désignés à temps plein : Inge Müller  & Daniel Zuniga 
  - Vétérinaires
    - Monitoring de la santé (programme sanitaire, sollicités en cas de problème de santé non anodin)
    - Formation du personnel
  - Responsables Bien-être animal
    - Comité d'éthique (n'y siègent pas mais font le lien entre le comité d'éthique fédéral et les chercheurs)
    - Accord avec la législation
  - Responsable des infrastructures (seulement Dr. Müller)
    - Gestion des installations

Autres animaux\*



## Laboratoire Université Caen

### Chercheurs et étudiants

- Anne-Sophie Darmaillacq 
  - Capacitaire
  - Projets de recherche
  - Soins aux animaux
- Autres chercheurs
- Etudiants travaillant dans la structure (doctorants, stagiaires)
  - Soins aux animaux

### Soigneurs et techniciens

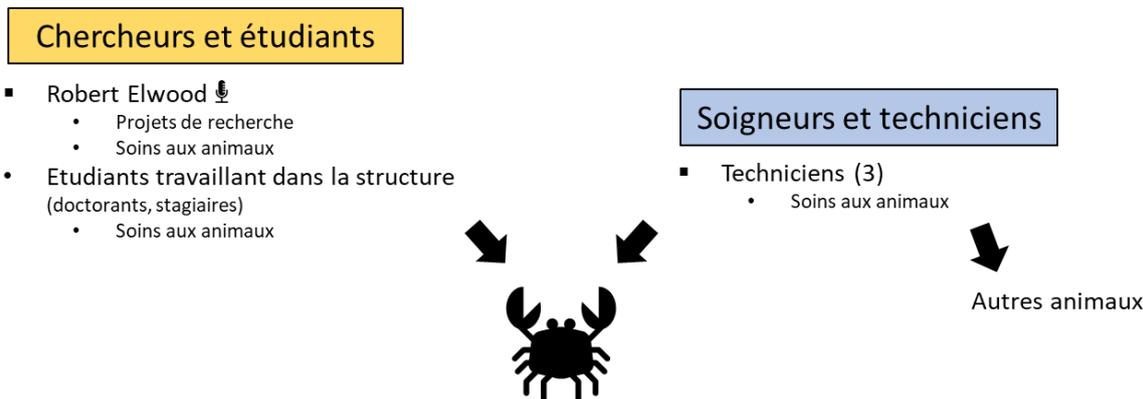
- Technicien animalier principal (1)
- Adjoint technique (1)
  - Soins aux animaux (pêche et nourrissage, entretien des bacs...)



### Vétérinaires

- Vétérinaire de la DDPP (1) (une fois par an)
  - Contrôle de l'adéquation de la structure avec les installations
- Vétérinaire au comité d'éthique normand
  - Evaluation des projets de recherche

## Laboratoire Université de Belfast, Royaume-Uni



**Figure 10 : Missions des professionnels en contact avec les animaux aquatiques au sein des structures des interviewés.** Une icône  à côté d'un nom signifie que la personne a été interviewée. Une flèche pleine indique que les personnes sont en contact direct quasi-quotidien avec les animaux. Une flèche pointillée indique que les personnes sont en contact indirect ou très peu fréquent avec les animaux. L'astérisque pour le laboratoire de Konstanz signifie que les soigneurs et techniciens cités s'occupent uniquement des espèces aquatiques et non des oiseaux. (Source : Maëlan Tomasek)

Les Drs Leguay et Mocho ont un statut particulier car ils travaillent en tant que vétérinaires libéraux et ne travaillent pas à temps plein pour un établissement de recherche. Leurs rôles de vétérinaires spécialistes en espèces aquatiques ou en espèces utilisées en recherche sont divers (**Figure 11**). Les deux comptent très peu de laboratoires d'éthologie ou de cognition au sein de leur clientèle.



**Figure 11 : Missions des vétérinaires indépendants.** Les vétérinaires indépendants comme les Drs Leguay et Mocho peuvent jouer plusieurs rôles pour les laboratoires qui sont alors leurs clients. (Source : Maëlan Tomasek)

### c. Place et vision du vétérinaire au sein des structures

Deux laboratoires ne disposent pas de vétérinaire ayant des contacts réguliers avec les animaux dans leur équipe : le laboratoire de Caen, s'occupant des céphalopodes, et le laboratoire de Belfast, s'occupant des décapodes. Les raisons de cette absence sont diverses. D'une part, pour les chercheurs, il est très difficile de trouver un vétérinaire qui soit intéressé et spécialisé dans ces espèces, d'autre part, le coût financier est un frein trop important pour les laboratoires par rapport au besoin d'un tel vétérinaire, qui ne travaillerait par exemple que pour un ou deux laboratoires en France et seulement quelques jours dans l'année, comme le souligne le Dr Darmaillacq. Enfin, comme le rappelle le Dr Elwood, pour les décapodes, il n'y a aucune obligation législative d'avoir un vétérinaire ou un expert soignant. Les chercheurs du laboratoire de Caen ne sont donc confrontés à des vétérinaires que lors des visites sanitaires de la DDCSPP ou lors de l'évaluation de leurs projets de recherche par le comité d'éthique normand, auquel siège un vétérinaire praticien.

Il est fréquent que les vétérinaires ne soient pas experts en espèces aquatiques et que la qualité des soins prodigués ne satisfasse pas les chercheurs, soigneurs et techniciens. Les Drs Leguay et Mocho ont pu à plusieurs occasions être contactés directement par des chercheurs non confiants dans les aptitudes de leur vétérinaire désigné. Comme ils le rappellent, il est important dans ces cas-là d'adopter une attitude déontologique et de contacter le vétérinaire désigné de la structure.

Ce phénomène a été également évoqué dans deux de nos structures d'étude : le laboratoire de Konstanz et le laboratoire de Lyon. Certains interviewés ont exprimé un manque de confiance envers les capacités du ou des vétérinaires de la structure, qui ont pu mener à des conflits non négligeables par le passé dans le laboratoire de Konstanz par exemple. Ces doutes envers les capacités des vétérinaires à s'occuper des espèces aquatiques ne sont pas restreints aux vétérinaires de ces structures, mais à la profession vétérinaire en général. Le Dr Jordan relate ainsi une expérience personnelle d'une consultation chez un vétérinaire pour un poisson qui n'a pas du tout été efficace. Les chercheurs peuvent donc avoir une expérience personnelle de l'inexpérience de certains vétérinaires et cette vision de vétérinaires inaptés est très présente dans le monde aquariophile. Les Drs Leguay et Mocho ont souvent été confrontés à l'argument qu'un vétérinaire ne pouvait pas s'occuper d'espèces aquatiques.

Pourtant, la majorité des chercheurs interviewés aimerait pouvoir travailler avec un vétérinaire spécialisé, mais peu d'entre eux croient en cette possibilité. Trois de nos quatre chercheurs n'imaginent pas un vétérinaire pouvant s'occuper d'espèces aquatiques. Beaucoup d'interviewés soulignent également le coût d'emploi d'un tel vétérinaire, tant le coût direct que le coût indirect si le vétérinaire conseille de retirer certains individus de manipulations ou de protocoles coûteux car leur bien-être est en jeu.

#### d. Discussion

Les professionnels s'assurant du bien-être et de la santé des animaux en laboratoire ont des rôles et des missions très variés qui parfois se recoupent. Il peut parfois être ambigu de déterminer qui a les compétences requises pour prendre la meilleure décision pour l'animal. La profession vétérinaire semble être la plus touchée par cette problématique et un manque de confiance envers les vétérinaires désignés semble être plutôt fréquent.

Le fait que ce problème soit évoqué dans les deux structures interviewées rassemblant le plus de personnel n'est pas négligeable : au plus il y a de personnes travaillant au contact des animaux et ayant suivi des parcours universitaires et/ou professionnels différents, au plus les avis sur la façon de régler un problème de santé peuvent diverger. Il est alors souvent ambigu de déterminer à qui revient la décision finale et de telles ambiguïtés ont été relevées dans ces deux structures.

La plupart des vétérinaires manquent d'expérience en espèces aquatiques et les autres professionnels qui ont l'habitude de travailler avec ces animaux peuvent percevoir les actions du vétérinaire comme inutiles voire délétères, ce qu'elles peuvent être réellement. Cette situation peut générer des conflits au sein de la structure. De par leur formation, les vétérinaires ont une approche clinique de l'animal totalement différente et bien souvent étrangère aux autres professions. Pourtant, cette réflexion est essentielle pour aborder les problèmes de santé et les vétérinaires ont toutes les capacités d'obtenir les connaissances essentielles en médecine aquatique (Blanc, 2018). C'est une profession en constante évolution, qui ne cesse de transposer ses connaissances et compétences à de nouvelles espèces. Les vétérinaires ont ainsi toutes les cartes en main pour démontrer leur rôle fondamental au sein des structures de recherche aquatiques.

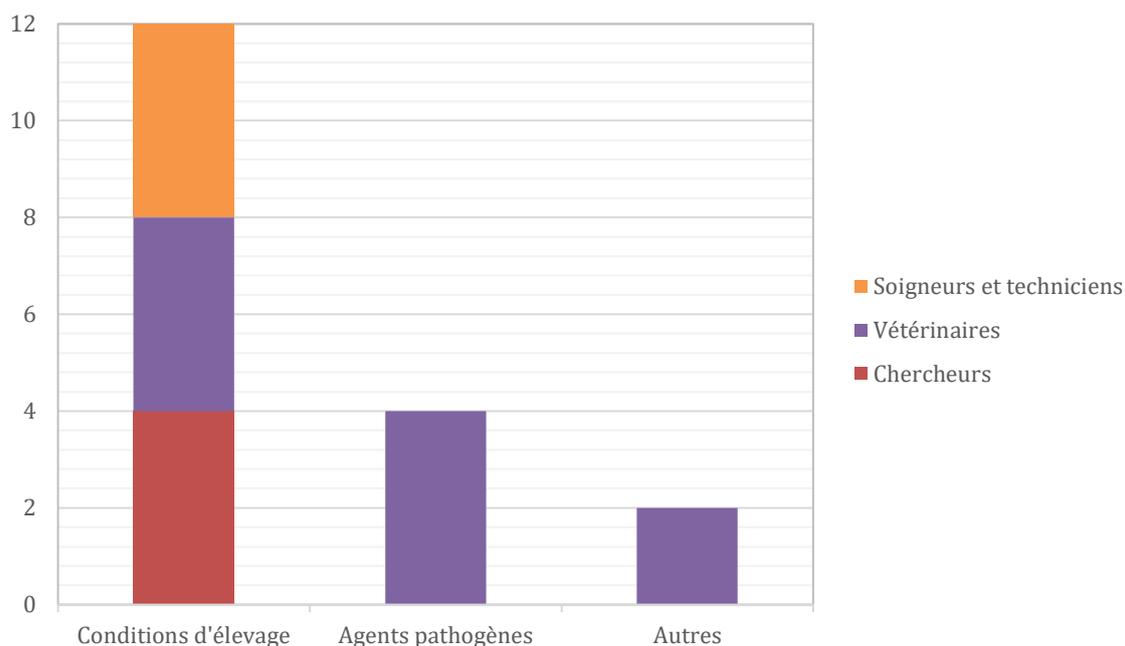
La communication entre les professionnels apparaît primordiale pour s'assurer d'une gestion adaptée du bien-être et de la santé des animaux. Un manque de communication semble être le mécanisme fondamental d'éventuels conflits au sein des structures. De tels conflits sont préjudiciables pour les animaux et il est essentiel de replacer l'animal au centre des préoccupations de tous les professionnels. La simple réalisation du fait que tous travaillent dans le but commun d'assurer la santé et le bien-être des animaux devrait encourager les échanges de connaissances et de pratiques entre les différents professionnels. Les différentes approches de la santé des animaux sont en effet complémentaires, et non pas contradictoires.

## 4. Santé et validité expérimentale en éthologie et cognition

---

### a. Paramètres influençant le comportement

Selon nos interviewés, plusieurs paramètres peuvent influencer le comportement des espèces aquatiques et impacter la validité interne des expériences (**Figure 12**).



**Figure 12 : Réponses spontanées des paramètres influençant le comportement des espèces aquatiques utilisées à des fins scientifiques.** Ces paramètres ont été donnés de manière spontanée par les différents interviewés (donc non demandés explicitement) et les paramètres non cités ont été discutés par la suite. (Source : Maëlan Tomasek)

Les **conditions d'élevage** sont pour tous nos interviewés l'élément primordial pour s'assurer d'un comportement naturel des animaux. Il est très important d'apporter une eau de bonne qualité et dont les paramètres physico-chimiques sont adaptés à l'espèce. Des enrichissements appropriés sont également très importants. En recherche comportementale, la recherche d'une stérilité absolue n'est pas une priorité car n'est pas primordiale pour les recherches effectuées. Un environnement « trop » stérile et privant les animaux de leur microbiote naturel peut même s'avérer préjudiciable. Une stérilité relative est obtenue en respectant les bonnes pratiques d'hygiène et en s'assurant du bon fonctionnement des circuits d'eau. Enfin, la majorité des recherches comportementales et cognitives ne sont pas réalisées sur des espèces modèles comme le poisson zèbre ou le guppy. Ces espèces ont été sélectionnées car elles sont très résistantes et ont été élevées en captivité pendant des décennies. Les conditions d'élevage sont pour elles moins restrictives. De plus, pour ces modèles, la majorité des échanges entre laboratoires se fait au stade œuf et l'oviparité apporte une garantie sanitaire suffisante. Il est possible également de désinfecter la surface des œufs. Ces pratiques sont moins courantes en recherche comportementale et cognitive. Pour certaines espèces, le laboratoire de Caen prélève des œufs dans la Manche. Les autres structures interrogées prélèvent les animaux aux stades juvéniles ou adultes dans le milieu naturel.

Les **agents pathogènes** ont également été mentionnés comme source de comportements anormaux. Tous les agents pathogènes ne vont bien sûr pas affecter les animaux, cela dépendra de la nature de l'agent et de la charge en agent. Cependant, certains agents pathogènes pourraient être problématiques, notamment en cas d'infections subcliniques.

*Pseudoloma neurophila*, une microsporidie infectant le système nerveux central et étant présente chez un grand nombre de laboratoires de poissons zèbres, a été mentionnée par tous les vétérinaires interviewés. Les Drs Müller et Zuniga, du Max Planck Institute of Animal Behaviour, sont sensibles à cette problématique du fait de leur formation vétérinaire et ont procédé à des analyses sur toutes les espèces de poissons du laboratoire, qui sont toutes revenues négatives.

Enfin, d'autres facteurs pouvant influencer le comportement ont été mentionnés par les Drs Leguay et Mocho, comme la souche animale utilisée et l'importance de la domestication. Cette problématique de souche génétique concerne principalement les poissons zèbres, qui représentent une faible proportion des espèces utilisées en recherche comportementale et cognitive. La domestication et l'origine des animaux sont, quant à elles, une problématique plus fréquente car l'ontogénèse des comportements peut potentiellement être différente selon la provenance des animaux, que ce soit du milieu sauvage ou du commerce. Tous les chercheurs interviewés utilisent des individus prélevés sur le terrain et sont donc peu confrontés à cette problématique.

#### b. Maximisation de la validité expérimentale

Pour tous nos chercheurs interviewés, la manière la plus importante pour s'assurer d'une bonne validité expérimentale est de limiter le stress. Tous cherchent à limiter le stress des individus au maximum lors des expériences. Une réflexion intense est ainsi menée sur les expériences : limitation du stress de déplacement en réalisant les expériences dans le bac d'élevage ou en utilisant un moyen de déplacement qui ne sort pas l'animal de l'eau (**Figure 13**), limitation de la privation de nourriture, limitation de l'isolement social...

La mesure des hormones de stress comme moyen de contrôle du bien-être animal en routine n'est pratiquée dans aucune des structures interrogées. Ces mesures sont plutôt réalisées lors de projets de recherche afin d'évaluer la réponse de stress dans diverses conditions expérimentales. Les Drs Jordan et Dechaume-Moncharmont conduisent de tels projets. Aucune personne interrogée ne semble penser que la mesure des hormones de stress en routine soit nécessaire à l'évaluation du bien-être des animaux.

Certaines expériences peuvent être également rendues moins stressantes par familiarisation à la manipulation ou aux dispositifs expérimentaux. Cette familiarisation présente cependant des limites mentionnées par tous nos chercheurs. En effet, la recherche comportementale étudie la plupart du temps les comportements naturels des espèces et un contact trop fréquent avec les humains peut modifier ces comportements. Au laboratoire de Caen, toutes les seiches utilisées sur des protocoles à renforcement alimentaire deviennent très familières comparées à d'autres individus sans interventions. Au laboratoire de Belfast, après approximativement trois semaines de captivité, les bernard-l'ermite deviennent apathiques et ne sont alors plus utilisés pour des expériences.



**Figure 13 : Illustration d'une méthode de limitation du stress chez une seiche commune *Sepia officinalis*.** Il est courant que les animaux doivent être transportés de leur bac d'élevage à un bac expérimental. Avant, la plupart des animaux étaient sortis à l'air libre le temps du déplacement. Cette sortie de l'eau peut s'avérer très stressante, notamment chez les céphalopodes qui en plus du stress aérien et des possibles contaminations à la surface de l'eau, sont soumis au stress de la pesanteur alors que ce sont des invertébrés. L'exemple ci-dessus montre un moyen simple de garder l'animal dans l'eau lors du transport et de limiter ainsi le stress évoqué. (Source : Anne-Sophie Darmaillacq & Ludovic Dickel)

### c. Perspectives futures

Tous les chercheurs interrogés sont sensibles à assurer le maximum de bien-être à leurs animaux pour maximiser leur validité expérimentale. Beaucoup notent que les connaissances sont pour l'instant limitées et que de nombreuses recherches restent à réaliser pour savoir quels paramètres sont les plus stressants pour les animaux. Comme le souligne le Dr Elwood, sans ces connaissances, il faut adopter une approche préventive et assurer la même quantité de stress, et donc les mêmes manipulations, à tous les groupes expérimentaux.

Tous nos chercheurs interviewés participent activement à investiguer l'influence de certains paramètres sur le comportement. Le Dr Jordan réalise par exemple des expériences sur l'impact de l'isolement social sur le stress des cichlidés via des mesures de cortisol. Le Dr Dechaume-Moncharmont réalise des expériences sur l'impact des manipulations courantes en laboratoire (punch biopsies, agents anesthésiques...) sur des aspects plus fins du comportement comme les biais de personnalité. La recherche actuelle évolue donc vers une caractérisation beaucoup plus fine de l'impact des manipulations sur le comportement et permettra ainsi d'augmenter encore la validité expérimentale des expérimentations.

### d. Discussion

Tous les interviewés accordent une importance particulière au bien-être des animaux utilisés à des fins scientifiques. L'impact de la santé sur la validité expérimentale est un souci particulier pour chacune des personnes interrogées.

Il est intéressant de noter que les différentes professions ne relèvent pas spontanément les mêmes paramètres pouvant influencer le comportement. De par leur formation clinique, seuls les vétérinaires accentuent l'importance d'éventuels agents pathogènes. Cela souligne une fois de plus la diversité des approches de l'animal en fonction des professions, et le bien-fondé de combiner ces approches pour s'assurer de sa bonne santé.

La plupart du temps, les nouvelles pratiques de gestion permettant de limiter le stress paraissent toutes simples et anodines (**Figure 13**). Comme le dit l'expression, « il fallait y penser » ! Pourtant, l'adoption et la diffusion de ces pratiques sont en réalité plutôt lentes. Ces idées ne donnent jamais lieu à des publications scientifiques à part entière pouvant être diffusées mondialement et rapidement, car trop peu intéressantes scientifiquement. Nous pouvons ainsi ici noter un des rôles primordiaux des groupes de travail institués par les associations professionnelles, à l'origine de guides pratiques : rassembler toutes ces simples idées de gestion dans une publication diffusée à large échelle. Hormis par ce biais, ces pratiques se propagent par contacts entre chercheurs lors de la visite d'autres laboratoires par exemple.

Nos échanges avec les interviewés permettent également de souligner le fait que certaines méthodes d'évaluation du bien-être des animaux ne sont tout simplement pas pratiquées en routine. Le dosage des hormones de stress, qui a pourtant donné lieu à une littérature foisonnante, n'est pratiqué dans aucun laboratoire dont nous avons connaissance. Il est en effet coûteux, et jugé inutile par rapport à l'observation du comportement. Les mesures d'hormones de stress vont être plutôt utilisées en recherche appliquée afin de déterminer quelles sont les meilleures conditions de vie des animaux. Certaines méthodes peuvent ainsi être mises sous les feux des projecteurs par la littérature mais s'avérer peu utiles dans la pratique, ou tout du moins plus utiles dans d'autres domaines, comme l'aquaculture.

## 5. Santé des espèces aquatiques en laboratoire

---

### a. Problèmes de santé les plus courants

D'après nos interviews, les problèmes de santé sont peu courants en recherche comportementale et cognitive. Cela peut être expliqué par plusieurs raisons :

- D'une part, contrairement à d'autres domaines de recherche, les expériences utilisent très peu de procédures techniques qui nécessitent des soins particuliers telles que des chirurgies. La plupart du temps, les animaux sont seulement manipulés et filmés, la procédure la plus invasive est l'identification mais elle est évitée le plus possible. Seulement deux chercheurs ont indiqué avoir eu déjà recours à des anesthésies par exemple, et uniquement chez les poissons.
- D'autre part, trois des laboratoires (Konstanz, Lyon et Belfast) gardent leurs animaux pour une courte période seulement, de quelques mois maximum. Les animaux sont ainsi prélevés sur le terrain, gardés en laboratoire le temps des expériences, puis relâchés. Le Dr Elwood ne gardait par exemple ses bernard-l'ermite au laboratoire que pour une période de 10 jours.

- Enfin, les chercheurs en éthologie et cognition sont peut-être légèrement plus sensibilisés au bien-être animal que dans d'autres domaines de recherche. Leur sujet d'étude, le comportement, étant tellement sensible à une moindre diminution du bien-être, tous les chercheurs interviewés ont affirmé que les animaux étaient leur priorité.

Nos interviews ont permis d'identifier les problèmes de santé les plus courants (**Tableau III**) :

- Blessures : La plupart des poissons vivant en groupe et étant territoriaux, il est fréquent que des individus reçoivent des blessures suite à des agressions. C'est le cas chez des espèces comme les cichlidés du laboratoire de Konstanz notamment, qui sont particulièrement territoriales. Ce sont également des lésions retrouvées fréquemment au laboratoire de Lyon si la densité de population est trop importante. Il n'y a pas de densité de population réglementaire maximale, elle est à adapter à chaque espèce et à chaque cas. Des lésions externes peuvent également être infligées par des objets dans l'environnement ou par le bac lui-même, comme chez les céphalopodes qui sont très sensibles. Ces cas sont heureusement rares au laboratoire de Caen.
- Maladies environnementales : La grande majorité des maladies retrouvées chez les espèces aquatiques en laboratoire proviennent de l'environnement. La moindre variation d'un ou de plusieurs paramètres de l'eau (température, pH, minéraux, accumulation de nitrites et nitrates par manque de filtration...) peuvent impacter la santé d'un individu, soit par conséquences physiologiques directes (exemple : maladie des bulles de gaz), soit par augmentation de la sensibilité aux agents pathogènes présents dans l'environnement. Les Drs Zuniga et Müller ont ainsi déjà été confrontés à une trop forte concentration en Zinc et Cuivre qui a entraîné une augmentation de la mortalité chez des poissons zèbres. Ces changements de qualité de l'eau peuvent être dus à des erreurs humaines involontaires, comme cela a pu être le cas au laboratoire de Belfast (désinfection du réservoir avec du chlore sans fermer la valve, arrêt de l'aération, utilisation d'eau douce au lieu d'eau salée...) ou à des problèmes liés aux machines gérant ces paramètres.
- Agents pathogènes : La plupart des agents pathogènes rencontrés en laboratoire sont des parasites, surtout externes (maladies des points blancs due à *Ichthyophthirius multifiliis* par exemple). Ces affections ont été évoquées par les deux structures travaillant avec des poissons. Des infestations par des nématodes chez les céphalopodes sont parfois retrouvées au laboratoire de Caen. Aucun des laboratoires interrogés n'a déjà eu affaire à une infection bactérienne.

**Tableau III : Affections rencontrées dans les laboratoires et par les vétérinaires interrogés.** Les affections dans les laboratoires notées dans ce tableau sont uniquement celles rencontrées par le passé par les chercheurs et soigneurs des équipes de recherche comportementale et cognitive interrogées. Pour les vétérinaires, ce sont les affections rencontrées dans tous les laboratoires pour lesquels ils travaillent ou ont travaillé (tous domaines de recherche confondus).

		Blessures	Maladies environnementales	Agents pathogènes				Autres
				Parasites externes	Parasites internes	Infections bactériennes	Infections virales	
<b>Laboratoires</b>	Belfast		✓					
	Caen	✓		✓	✓			
	Konstanz	✓		✓	✓			
	Lyon	✓		✓				
<b>Vétérinaires</b>	Drs Zuniga et Müller	✓	✓	✓	✓			
	Drs Leguay et Mocho	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

## b. Détection des problèmes de santé

Pour toutes les personnes interviewées, la détection des problèmes de santé passe d'abord par l'identification d'indicateurs comportementaux anormaux (nage, port des nageoires, fréquence operculaire ou respiratoire...). Certaines lésions externes peuvent apparaître mais le plus souvent, la maladie sera déjà bien développée.

La plupart des maladies les plus courantes sont présentes dans le programme sanitaire des laboratoires interrogés s'ils en disposent d'un et sont ainsi gérées directement par les soigneurs et les vétérinaires. Dans certains laboratoires, si le premier traitement ne fonctionne pas ou si les signes cliniques sont inhabituels, le vétérinaire peut être appelé pour poser un diagnostic plus précis.

La médecine vétérinaire aquatique étant peu développée, il est très dur de poser un diagnostic. La plupart du temps, il se fera en analysant des individus décédés ou sacrifiés. Ces individus sont envoyés en laboratoire pour analyses nécropsiques, histologiques, bactériologiques voire virologiques en cas de forte suspicion d'un virus particulier. Aucun de nos chercheurs n'a eu recours à de telles analyses par le passé. Il s'agit plutôt de demandes d'animaleries d'autres domaines de recherche utilisant notamment le poisson zèbre. Les Drs Müller et Zuniga ont par exemple déjà envoyé des individus mis à mort pour analyse suite à une suspicion d'infection à *Mycobacterium fortuitum* lors d'un épisode de forte mortalité chez des poissons zèbres d'un autre laboratoire, qui s'est avéré être finalement dû à un problème de qualité de l'eau.

## c. Gestion des problèmes de santé

La gestion des problèmes de santé semble être plutôt dirigée vers une gestion zootechnique aquariophile (**Tableau IV**). Le plus souvent, la première action est la mise sous quarantaine du ou des individus atteints. Comme le souligne M. Stadelhofer, cette quarantaine est à évaluer avec précaution pour certaines espèces sociales chez qui l'isolation pourrait aggraver l'état de l'animal. La gestion des problèmes de santé des espèces aquatiques est donc également à mettre en lien avec la diversité des espèces étudiées.

Il est ensuite courant de réaliser un traitement environnemental, c'est-à-dire de changer les paramètres de l'environnement. La plupart des maladies peuvent être résolues de cette manière, notamment en résolvant les paramètres physico-chimiques de l'eau s'ils sont impactés. Ces paramètres peuvent également être modifiés volontairement pour agir sur les agents pathogènes. Comme l'explique M. Stadelhofer, il est par exemple possible de passer un poisson affecté par un parasite externe quelques secondes dans un bain à une température d'un ou deux degrés supérieure au bain d'origine, ce qui entraînera la mort des parasites. Enfin, l'environnement peut être changé par modification de l'enrichissement du milieu. En cas d'agressions au sein d'un groupe par exemple, il est possible de jouer sur la densité de population, mais aussi sur l'ajout d'enrichissement pour diminuer ces agressions.

**Tableau IV : Gestion des problèmes de santé par les professionnels interrogés.** Ce tableau indique les procédures de gestion des problèmes de santé ayant déjà été utilisées dans les laboratoires interrogés, ou par les vétérinaires dans d'autres laboratoires.

		Quarantaine	Traitement environnemental (Paramètres physico-chimiques, gestion de la population, enrichissement...)	Traitements médicamenteux		Chirurgie
				Traitements aquariophiles de base (ex : antiparasitaires)	Traitements médicamenteux plus poussés (ex : antibiotiques)	
<b>Laboratoires</b>	Belfast		✓			
	Caen	✓	✓	✓		
	Konstanz	✓	✓	✓		
	Lyon	✓	✓	✓		
<b>Vétérinaires</b>	Drs Zuniga et Müller	✓	✓	✓		
	Drs Leguay et Mocho	✓	✓	✓	✓	✓

Pour tous nos interviewés, la gestion la plus courante d'un individu malade en laboratoire lorsque la quarantaine ou les changements environnementaux n'ont pas fonctionné est l'euthanasie. Il existe pour eux très peu de traitements médicaux pour les espèces aquatiques. La majorité des chercheurs interviewés n'ont jamais utilisé de traitements médicamenteux. Pour ceux qui l'ont fait, il s'agissait de traitements antiparasitaires externes simples. Aucun chercheur ni soigneur interrogé n'avait confiance dans les traitements médicaux.

La gestion de la santé des espèces aquatiques va donc principalement passer par la prévention. Le paramètre le plus important étant la qualité de l'eau, certains laboratoires comme celui du Dr Jordan investissent dans des moyens techniques permettant de monitorer au mieux cette qualité en analysant l'eau en continu. Le laboratoire du Dr Jordan et celui du Dr Darmaillacq utilisent tous les deux un système semi-fermé avec de l'eau pompée dans l'environnement. Cela assure une qualité de l'eau plus stable, mais peut également entraîner des problèmes, par exemple la qualité peut être détériorée à Caen quand beaucoup de touristes se baignent dans la mer, ou à Konstanz si la municipalité manipule l'eau.

La prévention passe ensuite par le fait d'assurer les meilleures conditions de vie aux animaux, en apportant des enrichissements spécifiques ou en adaptant l'ergonomie des aquariums chez les céphalopodes par exemple. Enfin, le respect des gestes sanitaires et des bonnes pratiques d'hygiène est primordial. Dans toutes les structures interrogées, la prévention était le pilier de l'abord de la santé des animaux.

#### d. Discussion

Il semble y avoir peu de problèmes de santé dans les structures que nous avons interrogées. Pourtant, les Drs Leguay et Mocho font état d'un panel beaucoup plus étendu d'affections qu'ils ont rencontrées au cours de leurs carrières dans d'autres laboratoires. Deux raisons principales peuvent expliquer ceci.

D'un côté, les structures interrogées semblent investir beaucoup dans la prévention des problèmes de santé. Les professionnels interviewés travaillent quotidiennement avec les animaux et peuvent repérer des signes anormaux et prendre des mesures très tôt. D'autres laboratoires et d'autres domaines de recherche utilisent souvent des centaines voire des milliers d'individus (généralement d'espèces modèles comme le poisson zèbre par exemple), hébergés dans des aquariums cherchant à optimiser l'espace et l'automatisation (**Figure 14**). Ces structures possèdent des atouts indéniables en matière de garantie de la santé des animaux, mais elles n'apportent bien souvent pas les mêmes conditions de vie que les aquariums utilisés en recherche comportementale et cognitive, notamment en termes d'enrichissement. L'élevage d'un tel nombre d'individus peut expliquer la plus forte prévalence d'affections dans de telles structures, qui sont la quasi-totalité des clients des Drs Leguay et Mocho. Dans les laboratoires interrogés, le nombre plus faible d'individus permet une surveillance individuelle plus poussée des animaux, et maximise la prévention des problèmes de santé. Peu d'études impliquent de la reproduction, ou des stades juvéniles et âgés, qui posent bien sûr plus de problèmes médicaux.



**Figure 14 : Deux exemples d'hébergements de poissons dans des laboratoires.** (gauche) Hébergement de poissons zèbres au Zebrafish Functional Genomics Core au Penn State College of Medicine. (droite) Hébergement de cichlidés africains au Max Planck Institute of Animal Behaviour, Konstanz, Allemagne. (Sources : research.med.psu.edu et Maëlan Tomasek)

De l'autre côté, le faible nombre d'affections rencontrées dans les laboratoires interrogés pourrait s'expliquer par un biais de détection : des problèmes de santé pourraient être présents mais non détectés. Le Dr Elwood rapporte ainsi que les cas de mortalité chez les décapodes n'étaient jamais précédés de quelconques signes cliniques. De même, chez les céphalopodes, le Dr Darmaillacq rapporte une évolution rapide des affections avec une mortalité souvent soudaine. Il paraît cependant possible que ces espèces expriment des signes, mais que l'expertise des professionnels interrogés ne soit pas assez développée pour les détecter. Comme investigué précédemment, la santé des espèces aquatiques est un domaine en cours de développement, et il est fort probable que l'expertise suffisante pour détecter certains problèmes de santé chez ces espèces ne soit pas encore d'actualité. La profession vétérinaire a sans nul doute un rôle très important à jouer dans le développement de la détection de ces problèmes.

Enfin, la gestion des problèmes de santé dans les structures interrogées semble limitée à une gestion zootechnique aquariophile simple. Lorsque des traitements médicamenteux sont utilisés ils se limitent à des traitements aquariophiles comme des antiparasitaires sans prescription. Aucun examen complémentaire de type imagerie ou analyses biochimiques n'ont été réalisés dans les laboratoires interrogés. Les raisons de cette gestion limitée sont multiples : certains laboratoires ne possèdent pas de vétérinaire en leur sein et n'ont donc pas accès facilement à des molécules autres que celles du commerce, le coût et l'utilité d'une gestion plus approfondie des affections non courantes peuvent être questionnés (cf II.8.b), la gestion des animaux est réalisée par des professionnels utilisant leur expérience aquariophile personnelle et n'ayant pas confiance en la médecine aquatique (Blanc 2018), l'expertise des professionnels dont le vétérinaire est limitée... La plupart de ces raisons ne sont donc pas une absence de volonté de traiter les animaux de la part des professionnels, mais plutôt une impossibilité.

La gestion des problèmes de santé dans les laboratoires de recherche comportementale et cognitive semble donc basée exclusivement sur une approche « prévention » et non sur une approche « traitement ». Cette approche préventive est indéniablement essentielle et

apparemment efficace au vu de la faible prévalence des affections dans les structures interrogées. Pourtant, certains cas d'affections non courantes et qui ne sauraient être évitées même avec une prévention parfaite (développement de tumeurs par exemple) ne sont gérés que de manière limitée. La médecine aquatique individuelle est pourtant en pleine expansion et les connaissances nécessaires pour traiter les affections des animaux aquatiques sont de plus en plus importantes. La profession vétérinaire en tant qu'experte de la santé animale a un rôle indéniable à jouer dans le développement de cette expertise aux espèces aquatiques, mais aussi de communication aux professionnels de laboratoires pour les informer du fait que certains problèmes de santé peuvent être investigués et traités. L'approche clinique vétérinaire est en effet totalement adaptée à la gestion des problèmes de santé individuels (**Annexe 7** pour un cas clinique).

Les laboratoires de recherche comportementale et cognitive sont un terrain parfaitement adéquat de développement de la médecine individuelle aquatique. En effet, ces laboratoires possèdent souvent un faible nombre d'individus et ces individus sont souvent importants car entraînés à réaliser différentes tâches pour des expériences. La valeur individuelle des animaux peut donc être élevée et justifier un investissement plus poussé dans la résolution des problèmes de santé. Dans d'autres laboratoires, les Drs Leguay et Mocho pratiquent ainsi la médecine individuelle, dont parfois des traitements chirurgicaux, pour des poissons issus d'une lignée génétique rare et qui ne contient que peu d'individus. Il paraît envisageable qu'une telle médecine puisse également se développer en recherche comportementale et cognitive.

## 6. Législation

---

### a. Résultats

Tous nos interviewés s'accordent à dire que, bien qu'essentielle et bénéfique, la législation n'est pas adaptée aux espèces aquatiques car trop générale et centrée sur les mammifères. Comme le souligne le Dr Jordan, cette non-adaptation peut parfois aboutir à des incohérences dans l'esprit de la loi lorsqu'on essaie de l'appliquer aux espèces aquatiques. Cet esprit est selon lui certes de protéger les animaux contre des traitements non éthiques, mais surtout de comprendre les animaux pour le bien des animaux et non pour celui des humains.

Certaines demandes légales vont donc être difficilement applicables pour les espèces aquatiques. En effet, la loi souligne l'importance d'un suivi individuel qui peut s'avérer difficile chez les espèces aquatiques qui ont une capacité reproductrice beaucoup plus importante que d'autres taxons. Le Dr Dechaume-Moncharmont explique ainsi qu'il est difficile de chiffrer les entrées et les sorties des individus quand des dizaines et des centaines d'œufs sont pondus, même si la majorité d'entre eux n'arriveront pas à l'âge adulte. Le Dr Müller elle, souligne la complexité de monitorer les utilisations et réutilisations des animaux dans les expériences du fait de la difficulté d'identifier les espèces aquatiques, mais cela reste tout de même possible en recherche comportementale et cognitive qui n'utilise bien souvent qu'une faible quantité d'individus. En effet, les laboratoires interrogés disposent de différentes techniques afin d'identifier leurs individus, que ce soit un aménagement adéquat des aquariums ou le tagging

(identification des individus par injection d'élastomère le plus souvent), bien qu'il soit évité et utilisé rarement uniquement au laboratoire de Konstanz.

La législation est également peu adaptée aux espèces aquatiques lors d'utilisation de petites espèces. Le Dr Mocho souligne la difficulté d'appliquer le classement en sévérité des expériences demandé par la loi chez des petites espèces (Smith *et al.*, 2018). Certaines méthodes sont également inadaptées pour les petites espèces comme les méthodes d'euthanasie qui sont tirées de l'aquaculture, ou les méthodes de confirmation d'euthanasie telles que l'exsanguination qui n'est pas réalisable chez des espèces de petit format. Ainsi, le laboratoire de Konstanz a obtenu une dérogation de l'État allemand leur permettant de réaliser une euthanasie par refroidissement rapide chez les petites espèces tropicales (moins de 5cm). Cette méthode n'est pas une méthode listée pour le moment dans la directive européenne.

Enfin, les Drs Leguay et Zuniga notent l'inadaptation de la législation et des recommandations pratiques à la diversité des espèces utilisées en laboratoire. Mme Clair relève par exemple le manque de consignes sur le nombre de poissons par aquarium dans la législation, car tout doit se faire au cas par cas selon l'espèce. L'effort de recherche sur les densités de population optimales se sont en effet pour l'instant focalisées sur les espèces aquacoles (North *et al.*, 2006 ; Branson, 2008). Les Dr Leguay et Mocho font partie d'un groupe de travail FELASA pour réaliser un guide pratique sur les « maladies des poissons », mais tous deux insistent sur l'impossibilité d'une telle tâche au vu de la diversité des espèces.

Cependant, comme le note le Dr Müller, il est très important de respecter la législation en vigueur, même s'il y a des incohérences, car l'expérimentation animale est de plus en plus critiquée par le public. Il est donc important de s'assurer d'être du côté de la loi. Selon elle, il faut être transparent avec les autorités qui ne sont pas dupes de ces inadéquations de la loi pour certaines espèces et ont les mêmes objectifs d'amélioration que les laboratoires.

Pour les céphalopodes, le Dr Mocho souligne l'absence de toute recommandation dans la loi dû à un manque de connaissances. Comme l'explique le Dr Darmaillacq, l'arrivée des céphalopodes dans la directive européenne a été un énorme bouleversement dans le milieu. Une forte mobilisation européenne a été lancée pour améliorer les connaissances et les pratiques, comme le colloque européen EuroCeph2011 ou le programme COST FA1301 (COopération européenne en Sciences et Technologies). D'après elle, beaucoup de chemin reste à faire pour une harmonisation des pratiques, mais la législation a permis une incroyable avancée des connaissances chez ces espèces.

Tous nos interviewés regrettent l'absence de protection des autres invertébrés dans la législation, qui ont été refusés de la directive européenne. Le Dr Elwood souligne ainsi l'importance d'une éthique personnelle lorsque l'on travaille avec des crustacés décapodes, car il n'y a aucune obligation réglementaire. Cette absence de régulation et de recommandations peut mener à des pratiques douteuses en matière de bien-être, comme le rapportent le Dr Leguay et Mme Clair, qui témoignent par exemple de certaines animaleries stockant des crabes dans le bac à légumes d'un réfrigérateur, ce qui cause de nombreuses pertes individuelles.

La loi est bien évidemment en perpétuelle évolution. Comme l'explique le Dr Mocho, une révision de la directive 2010/63/EU est en cours par la Commission Européenne, qui aboutira à certaines modifications de la loi mais surtout à l'ajout de deux changements importants pour les espèces aquatiques : l'ajout de recommandations sur la gestion des céphalopodes en laboratoire et l'ajout de la méthode de refroidissement rapide comme méthode d'euthanasie chez les poissons, telle qu'elle est reconnue par les recommandations nord-américaines (guide AVMA sur l'euthanasie, 2020). La majorité des interviewés croient également en un ajout proche des crustacés décapodes dans la législation. Comme l'explique le Dr Elwood, la reconnaissance dans la loi de la sentience des décapodes est en cours au Royaume-Uni dans le cadre de la révision de l'Animal Sentience Bill. Bien que cet ajout ne changera pas la législation en cours, il imposera une considération des décapodes dans les futures lois de protection animale.

#### b. Discussion

Il est important de souligner que la législation envers les animaux aquatiques utilisés à des fins scientifiques existe et permet de protéger ces espèces. Elle est relativement récente, notamment pour les céphalopodes, et présente bien sûr des lacunes qui seront certainement adressées dans les prochaines révisions.

Le point faible le plus important de la législation semble qu'elle soit fortement biaisée envers les espèces aquacoles et dans une moindre mesure le poisson zèbre. Elle ne permet ainsi pas d'adresser les besoins spécifiques à la diversité d'espèces utilisées en laboratoire. La plupart des normes ne sont pas pertinentes pour de nombreuses espèces et vouloir les respecter à la lettre ne relève que du besoin de satisfaire les inspections sanitaires. Comme le font nos interviewés, il faudrait se recentrer sur des indicateurs du bien-être animal, et notamment comportementaux, plus importants que les simples chiffres des paramètres environnementaux.

## 7. Connaissances en santé et bien-être des espèces aquatiques

#### a. État des connaissances

Tous nos interviewés s'accordent à dire que les connaissances en santé et bien-être des espèces aquatiques sont limitées comparées à d'autres espèces comme les mammifères. Certains domaines sont très peu évolués, notamment l'analgésie. Le Dr Mocho a fait de ce domaine un de ces axes de recherche et a par exemple élaboré avec ses collègues en 2014 un protocole d'analgésie lors du « fin clipping » (excision d'une partie d'une nageoire) chez les poissons zèbres, une manipulation courante pour analyser le génotype des individus. Il explique que le processus de mise en place et d'harmonisation des pratiques est très long. Son protocole n'a ainsi été publié qu'en 2021. Les techniciennes du laboratoire de Lyon ont développé une nouvelle technique d'analgésie pour les poissons par combinaison de tricaine et de lidocaïne et espèrent publier les résultats sous peu. Les pratiques sont donc en constante amélioration et chaque professionnel travaillant avec ces animaux participe à leur développement.

Les professionnels interviewés relèvent également tous un biais des connaissances envers certaines espèces seulement, en particulier le poisson zèbre. M. Stadelhofer note avec amusement que la communauté scientifique s'étonne devant le développement du modèle « cichlidés » qui représentera sûrement un grand pan de l'avenir de la recherche. Pour lui, cet intérêt est dû au fait que des professionnels possédant les bonnes connaissances en santé et bien-être des espèces aquatiques ont su élever des cichlidés en laboratoire et obtenir ainsi des résultats. Il interroge ainsi l'utilisation de certains modèles moins intéressants au niveau comportemental comme le poisson zèbre juste parce que ce sont les seules espèces que la majorité des professionnels arrive à élever en laboratoire. Plus les connaissances en santé et bien-être d'une espèce vont être conséquentes, plus cette espèce pourra être élevée au mieux en laboratoire, apporter des résultats intéressants, et susciter l'intérêt des chercheurs. Pour l'instant, la majorité des connaissances se focalisent sur les espèces modèles comme le poisson zèbre surtout ou le médaka, mais comme le souligne le Dr Mocho, il s'agit déjà d'une bonne avancée car il est inconcevable de publier des résultats sur toutes les espèces et il faut donc bien commencer quelque part. Pour les professionnels en éthologie, le déséquilibre entre les connaissances trop axées sur le poisson zèbre par rapport aux autres espèces reste tout de même un problème.

## b. Acquisition des connaissances

### i. Formation et expériences

La plupart des formations initiales ne proposent pas de formations spécifiques pour appréhender le bien-être et la santé des espèces aquatiques. Comme le souligne le Dr Müller, il s'agit pour les vétérinaires d'une spécialisation à part entière, au même titre qu'une autre spécialisation vétérinaire. Certaines formations vétérinaires proposent des cours optionnels mais qui sont fortement axés sur l'aquaculture. La majorité des interviewés n'ont donc reçu que peu voire pas de formation initiale et ont des parcours professionnels plutôt variés (**Tableau V**). Il est intéressant de noter l'importance de l'expérience personnelle en aquariophilie dans la gestion des animaux en laboratoire. En effet, certains de nos interviewés, et en particulier les chercheurs et les techniciens, sont aquariophiles depuis leur plus jeune âge et ont des connaissances pratiques que n'ont pas d'autres professionnels comme les vétérinaires.

Tous nos interviewés ont également pu suivre des congrès ou des formations spécialisées dans le cadre de leur développement professionnel continu (CPD) (**Tableau V**). Ces formations peuvent être organisées par des organisations privées, par des structures publiques comme l'école vétérinaire de Nantes, ou par les laboratoires eux-mêmes. Les Drs Müller et Zuniga organisent ainsi des formations au sein de leur laboratoire pour les nouveaux techniciens et doctorants. Bien que ces formations soient la plupart du temps axées sur le poisson zèbre, tous les interviewés notent une amélioration car il y a quelques années ces formations supplémentaires existaient uniquement pour les rongeurs, et il faisait peu de sens de suivre une formation rongeurs pour ensuite travailler sur les espèces aquatiques. Cependant, comme le souligne le Dr Jordan, la différence taxonomique entre les poissons zèbres et les cichlidés

**Tableau V : Formations initiales, parcours professionnels, formations continues et expériences personnelles des professionnels interviewés**

Nom	Formation initiale	Parcours professionnel, formation continue et expérience
<b>Chercheurs</b>		
Anne-Sophie Darmaillacq	Etudes académiques de biologie	Formation expérimentale espèces aquatiques à Nantes Cours pratiques céphalopodes Ceph Train chaque année à Naples (pour les étudiants)
François-Xavier Dechaume-Moncharmont	Etudes académiques de biologie	Formation expérimentale spécialisée en poissons (chirurgie, prises de sang...)
Alex Jordan	Etudes académiques de biologie	Expérience personnelle en aquariophilie Formation expérimentation animale vertébrés FELASA, spécialisation poisson zèbre
Robert Elwood	Etudes académiques de biologie	Pas de formations pour travailler avec les crustacés décapodes
<b>Vétérinaires</b>		
Inger Müller	Etudes vétérinaires en Allemagne	Formation FELASA pour poissons zèbres, formation procédures sur poissons à Berne (1 jour)
Daniel Zuniga	Etudes vétérinaires au Chili Dont 2 cours optionnels sur les poissons (aquaculture)	Formation FELASA pour poissons zèbres Formation Health and colony management of laboratory fish aux Etats-Unis
Emmanuel Leguay	Etudes vétérinaires en France 5 <sup>ème</sup> année en Master aquaculture et sciences vétérinaires en Ecosse	Webinaires et congrès Expérience personnelle en aquariophilie
Jean-Philippe Mocho	Etudes vétérinaires en France	Parcours professionnel initial dans la médecine de population et pathologie du bétail Formations aux Etats-Unis (Zebrafish International Center)
<b>Techniciens, soigneurs animaliers</b>		
Bastian Stadelhofer	Pas de formation initiale particulière	A travaillé 20 ans comme vendeur dans un magasin aquariophile Formations FELASA pour poissons zèbres tous les 3 ans (dont il gère certains cours...)
Angéline Clair	BTA Technicienne en expérimentation animale Licence en physiologie et physiopathologie de l'animal	Formations pour le bien-être des poissons (toutes espèces à Liège et poisson zèbre à Lyon) Expérience personnelle en aquariophilie
Laëtitia Avery	DUT en génie biologique, analyses biologiques et biochimiques	Formations pour le bien-être des poissons (toutes espèces à Liège et poisson zèbre à Lyon)
Justine Sigaud	DUT en génie biologique, option agronomie	Pas encore de formation (travaille à l'animalerie depuis quelques semaines)

Cette liste n'est en aucun cas exhaustive et la complexité des parcours individuels ne saurait être résumée dans une seule case de ce tableau. Ce tableau a plutôt pour objectif d'illustrer la diversité des parcours et des formations des professionnels au contact avec les espèces aquatiques en laboratoire.

est plus grande qu'entre les aigles et les éléphants. Sous cet angle, une formation spécifique aux poissons zèbres apparaît seulement un peu plus utile qu'une formation sur les rongeurs.

L'acquisition de connaissances passent donc majoritairement chez tous nos interviewés par l'expérience personnelle. Certaines espèces n'ont jamais été élevées en laboratoire et il est alors nécessaire de développer soi-même un nouveau système par essai-erreur. Le Dr Elwood a par exemple développé par lui-même la gestion des bernard-l'ermite dans son laboratoire.

## ii. Littérature

Tous nos interviewés non-aquariophiles soulignent l'intérêt de la littérature pour acquérir des connaissances. Comme l'explique le Dr Leguay, il est possible de trouver des articles scientifiques pour des espèces ou des agents pathogènes particuliers. Certains livres consistent également en une bonne revue de la littérature, bien que les connaissances sont la plupart du temps peu détaillées et que la majorité des livres soient anciens. Certains articles de médecine vétérinaire individuelle peuvent également être trouvés, la plupart du temps en provenance des Etats-Unis où cette médecine est développée. Cependant, cette littérature est biaisée envers certaines espèces comme le poisson zèbre et certaines pratiques ne vont pas être applicables chez d'autres espèces. La gestion en laboratoire du poisson zèbre cherche par ailleurs à devenir de plus en plus normalisée et exigeante sur le plan sanitaire, et donc inadéquate pour d'autres espèces.

Pour les autres espèces, les connaissances en gestion et santé se retrouvent dans la littérature aquariophile mais comme le souligne M. Stadelhofer, cette littérature est le plus souvent basée sur des informations personnelles d'aquariophiles qui décrivent les conditions de vie d'une espèce en seulement un endroit de la planète où ils l'ont trouvée, et est donc à prendre avec précaution. Le Dr Zuniga regrette un manque de vérifications et d'appui de ces informations par une approche scientifique concrète.

De plus, le Dr Leguay explique que la plupart des connaissances pratiques sont détenues par les aquariophiles et ne sont pas partagées à l'ensemble des professionnels qui pourraient profiter de ces connaissances car non publiées ou non publiables. Il souligne ainsi l'importance des guides pratiques, qui permettent de publier un nombre conséquent de simples connaissances pratiques de gestion des espèces aquatiques qui n'auraient jamais été publiées par elles-mêmes.

## iii. Échanges entre professionnels

Tous nos interviewés accentuent enfin l'importance des échanges d'informations entre professionnels. Ces échanges peuvent se faire au sein même du laboratoire. Le Dr Müller insiste ainsi sur le fait que chaque professionnel possède ses propres connaissances et que la plupart du temps, les professionnels ayant le plus de connaissances des animaux eux-mêmes sont les personnes en contact quotidien avec elles comme les techniciens. Il est donc primordial d'instaurer des échanges afin d'acquérir le maximum de connaissances.

Ces échanges peuvent également se faire entre professionnels travaillant dans d'autres structures. Ces relations peuvent se créer lors de la visite de collègues ou confrères d'autres laboratoires, par des rencontres lors de formations ou par des connaissances personnelles

comme des anciens collègues étudiants de la même école. Comme le note Mme Clair, ce réseau de connaissances peut cependant être difficile à créer, car il y a peu de professionnels dans ce milieu.

Les échanges d'informations entre professionnels sont une occasion d'obtenir un aperçu de pratiques autres que celles réalisées dans son laboratoire, et permettent une amélioration générale et une harmonisation des pratiques entre laboratoires. Le Dr Darmaillacq note également un autre moteur de l'amélioration des pratiques qui est l'intérêt des étudiants travaillant au laboratoire à l'occasion de stages par exemple. Ces étudiants étant confrontés pour la première fois à ces espèces, ils peuvent se sentir plus affectés et impuissants face la maladie ou la perte de leurs animaux, et sont parfois le moteur d'essais de nouveaux traitements ou de nouvelles manières de tenter de sauver l'animal. Comme le souligne le Dr Darmaillacq, ces piqûres de rappel de la valeur des animaux utilisés en recherche est non négligeable dans la quête d'amélioration du bien-être par les chercheurs, qui sont confrontés tous les jours aux mêmes espèces et problèmes et dont le seuil de sensibilité pourrait être diminué au fil du temps.

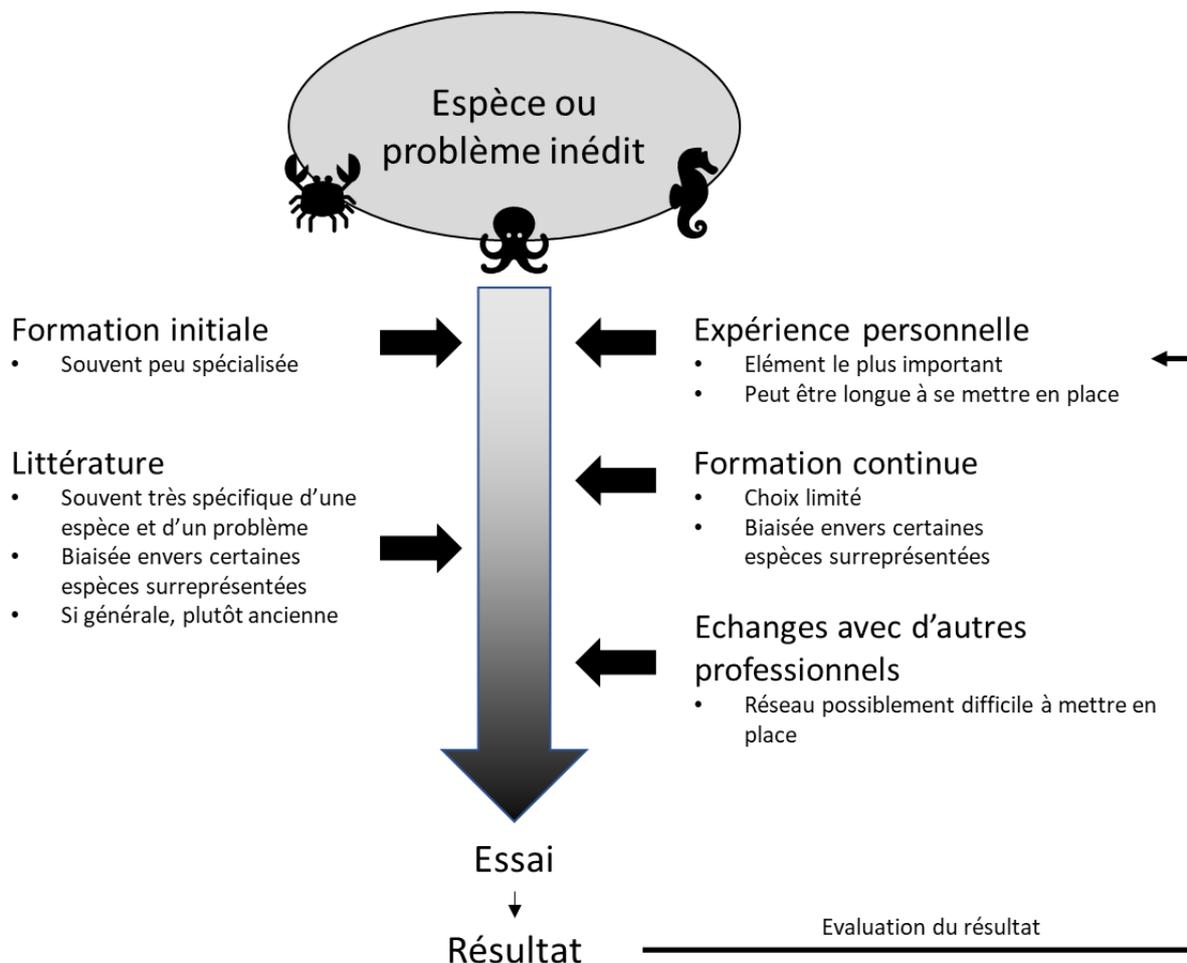
### c. Discussion

Il existe donc de nombreux moyens d'acquérir des connaissances mais la plupart des professionnels travaillant avec les espèces aquatiques en laboratoire seront à un moment donné confrontés à des espèces inédites. Les techniciennes du laboratoire de Lyon accueilleront par exemple prochainement pour la première fois des crabes dans leur animalerie. Il est possible de généraliser ses aptitudes à ces nouvelles espèces du mieux possible, par un mélange d'expérience personnelle, de formations, de recherches bibliographiques et d'échanges avec d'autres professionnels (**Figure 15**).

La présence de professionnels aquariophiles assurant le soin aux animaux dans les structures de recherche est un atout indéniable. Même si ces personnes n'occupent pas des postes qui leur font prendre les décisions finales envers les animaux, il est important d'écouter leurs conseils. Il faut également cependant noter que la gestion privée des espèces aquatiques ne saurait être en tous points comparable à la gestion d'une structure de recherche, qui comprend beaucoup plus d'acteurs et de régulations.

D'après nos interviews, la présence de personnes aquariophiles dans les équipes de recherche ne semble pas si courante. Cela pourrait expliquer la prédominance de certaines espèces aquatiques en recherche. En effet, certaines espèces sont plus faciles à élever et se sont rapidement développées comme modèle animal. L'utilisation intensive de modèles animaux présente des atouts indubitables comme la création rapide de nouvelles connaissances ou l'établissement de groupes de travail permettant d'améliorer rapidement les conditions d'élevage de ces espèces. Cependant, il est intéressant de relever que ce biais de facilité d'élevage a en réalité de fortes conséquences sur la recherche. Une espèce facile à élever n'est pas forcément une espèce idéale pour explorer des concepts biologiques intéressants. Cela peut expliquer la faible prévalence des poissons zèbres en recherche comportementale et cognitive, car ces derniers présentent en réalité un répertoire comportemental plutôt limité. D'autres espèces plus intéressantes mais plus difficiles à élever,

comme les cichlidés, peuvent être utilisées. Les découvertes en recherche comportementale et cognitive, comme pour d'autres domaines de la recherche animale, vont alors être dépendantes de la capacité des équipes de recherche à élever ces espèces, et donc à leur assurer une bonne santé.



**Figure 15 : Mécanismes d'acquisition de connaissances lorsqu'un professionnel se retrouve face à une espèce aquatique inédite ou un problème qu'il n'a jamais rencontré auparavant.** Par exemple, un vétérinaire ayant suivi un cursus normal et n'ayant aucune expérience en aquariophilie aura une expérience personnelle quasi-inexistante pour s'occuper des espèces aquatiques et devra ainsi acquérir des connaissances via les autres leviers. Il est primordial que tous ces leviers d'apprentissage soient utilisés au maximum avant « l'essai » car il relève de la responsabilité éthique et morale de posséder le maximum de connaissances pour assurer le bien-être et la santé des animaux. (Source : Maëlan Tomasek)

Ce biais a peut-être encore plus d'importance avec les espèces aquatiques pour éviter des généralisations abusives à un groupe phylogénétique si diversifié. Il est moins choquant pour un public non biologiste de rapporter qu' « une étude a montré que les poissons étaient capables ou non de faire telle ou telle chose » alors que cette étude a été réalisée uniquement

chez le poisson zèbre, plutôt que de dire « une étude a montré que les mammifères étaient capables ou non de faire telle ou telle chose » alors que l'étude a été réalisée uniquement chez la souris. La prédominance de certains modèles animaux a ainsi de fortes conséquences, positives et négatives, sur l'acquisition de connaissances en santé des espèces aquatiques, mais aussi sur la recherche en elle-même et sur la perception sociétale des espèces aquatiques.

## 8. Perceptions des animaux aquatiques

---

### a. Perception sociétale des organismes aquatiques

Tous nos interviewés s'accordent à dire que la perception sociétale des organismes aquatiques est moins élaborée que pour d'autres espèces, à l'exception des mammifères et des oiseaux marins pour qui le public se prend plus volontiers d'affection. Le Dr Jordan explique cette perception par le fait que l'Homme est un animal essentiellement visuel utilisant les contacts visuels pour la communication et la compréhension des états émotionnels de ses congénères. A partir du moment où un tel contact visuel n'est plus possible, comme chez les espèces ne possédant pas un œil de mammifère, il y a une rupture d'empathie. Les humains feront donc une distinction dans la sentience de ces espèces, ce qui entraîne des différences au niveau des lois, des pratiques scientifiques, mais aussi au niveau des pratiques sociétales. Il s'interroge ainsi par exemple sur le pescétarisme, que la majorité des personnes pratiquent parce qu'elles refusent de consommer de la viande car elles sont sensibles à la souffrance animale, mais pour lesquelles il n'est pas dérangeant de pêcher un thon en pleine mer et de le laisser mourir d'asphyxie sur un bateau.

Cette distance empathique entre les humains et les animaux aquatiques peut se révéler être un obstacle dans la garantie de la santé des animaux utilisés à des fins scientifiques. Les techniciennes du laboratoire de Lyon rapportent par exemple une difficulté à envisager une relation proche avec leurs animaux aquatiques, comme elles pourraient en avoir avec d'autres animaux, y compris des amphibiens et reptiles qui sont aussi présents dans leur structure. La distance empathique est en effet renforcée par la barrière physique des deux différents milieux de vie (aériens et aquatiques) qui limite les contacts physiques avec ces espèces, et donc la création de liens entre animaux et professionnels de laboratoire.

Cette perception des espèces aquatiques est très présente dans la société et même chez la plupart des chercheurs, vétérinaires et techniciens. Le Dr Elwood rapporte ainsi que les premières lois de protection animales ont inclus les poissons car il était plus simple de parler de « tous les vertébrés ». Cependant, les pratiques de bien-être et santé envers les poissons n'étaient pas vraiment respectées. Une grande partie de sa carrière a été dédiée à explorer l'existence de douleur chez les crustacés décapodes et il explique avec amusement qu'il ne s'attendait pas du tout à ce que ces animaux puissent être sentients lorsqu'il a commencé ses expériences, qu'il voyait plutôt comme un moyen de former les étudiants à la réflexion scientifique.

La perception plutôt négative de la société est donc bien présente dans le travail de recherche, mais certains de nos interviewés la considère comme un moteur pour la recherche. Le Dr Jordan rappelle que bousculer cette perception de la société est le fondement même de sa carrière et il lui est agréable de noter une évolution dans les mentalités lorsqu'il expose les résultats de ses recherches. Selon lui, cette perception est donc en train de changer, mais très lentement et de manière non rationnelle, comme le montre les législations qui ne considère de protéger de nouvelles espèces uniquement parce qu'elles ont gagné l'affection de la société, comme les céphalopodes que l'on peut maintenant retrouver dans de nombreux médias. Le Dr Jordan affirme : « les régulations ne sont pas rationnelles, elles sont émotionnelles ».

#### b. Valeur de l'animal aquatique de laboratoire

Cette perception des espèces aquatiques est également présente dans les laboratoires et va venir teinter la vision de l'animal aquatique. Nos interviewés expliquent que la gestion du bien-être et de la santé des espèces aquatiques en laboratoire est bien différente en pratique que pour d'autres espèces. La santé en laboratoire fonctionne sur la médecine de population et non sur la médecine individuelle, et aborde plutôt la gestion des animaux comme celle d'un élevage. Le Dr Leguay rappelle que la notion de « Remplacement » des 3R est importante car il y a quelques années, le Remplacement consistait à faire les expériences sur des poissons plutôt que sur des mammifères. Ce raisonnement n'est plus tolérable de nos jours mais peut avoir façonné la façon de penser d'un certain nombre de chercheurs.

Tous nos interviewés affirment également que la valeur d'un animal va aussi être différente selon le nombre d'individus présents dans le laboratoire. Les espèces aquatiques ayant généralement un pouvoir reproducteur très élevé, la gestion zootechnique peut souvent se résumer à euthanasier un individu qui est en mauvaise santé car il est facile de le remplacer. Les Drs Leguay et Mocho rapportent que certains laboratoires possèdent moins d'animaux et vont être beaucoup plus attentifs à la santé de ces animaux, quand d'autres laboratoires vont plutôt chercher la rentabilité, en augmentant la température de l'eau au maximum de ce qui est autorisé par exemple.

#### c. Recherche et aquaculture

Tous nos interviewés notent que les exigences en bien-être et santé des espèces aquatiques en laboratoire sont bien plus élevées qu'en aquaculture. Le Dr Elwood rappelle que cette divergence est inscrite dans la loi, dans laquelle la recherche scientifique se doit d'adopter de plus hauts standards de bien-être que dans les législations régissant l'aquaculture.

Enfin, les Drs Jordan et Dechaume-Moncharmont soulignent que l'intérêt en bien-être et santé des animaux est sûrement encore plus élevé en recherche comportementale et cognitive que dans d'autres domaines de recherche. Il n'y a pas une unité de pensée et d'abord de l'animal au sein de la communauté scientifique et les chercheurs en éthologie sont souvent

bien plus sensibilisés au bien-être animal car plus aptes à être attentifs aux comportements pour décrypter les attentes et besoins des animaux. Le Dr Dechaume-Moncharmont note également qu'il y a très peu d'éthologues siégeant aux comités éthiques, ce qui fait que les évaluations éthiques peuvent parfois être basées sur des indicateurs non-comportementaux (concentration en hormones par exemple). Des conséquences plus fines des manipulations expérimentales peuvent ainsi être omises. Enfin, les Drs Dechaume-Moncharmont et Elwood soulignent que le domaine de l'éthologie s'investit dans cette quête du bien-être animal et certains journaux, dont *Animal Behaviour*, cherchent à avoir des exigences éthiques supérieures à la législation en vigueur, en créant des comités d'éthique internes ou en incluant les invertébrés non encore soumis à des régulations dans leurs considérations éthiques.

#### d. Discussion

La perception humaine des animaux aquatiques est le dernier point abordé dans cette thèse, mais c'est sûrement le point clé permettant d'éclairer de nombreuses problématiques relevées au cours de ce travail. Elle est primordiale dans notre réflexion car elle va implicitement avoir de fortes conséquences sur la gestion du bien-être et de la santé de ces espèces en laboratoire.

La société semble avoir une vision très paradoxale des animaux aquatiques. D'un côté ces espèces gagnent la sympathie de l'opinion publique. Les animaux aquatiques sont notamment de plus en plus présents dans les médias : documentaires, journaux télévisés, internet et autres. Ils étonnent et fascinent : on s'extasie devant une pieuvre prédisant l'issue des matchs de la coupe du monde de football (« Paul le poulpe », Wikipedia), on s'amuse du fait que des poissons puissent connaître des « chagrins d'amour » (Le Parisien, 2019) ou se reconnaître dans le miroir (France Inter, 2018)... Pourtant de l'autre côté, la société semble totalement désintéressée par ces espèces et les considère uniquement comme des espèces aquacoles dénuées de la moindre sentience, justifiant des pratiques comme le pescétarisme par convictions ou la pêche de loisir. La recherche animale est de plus en plus critiquée par l'opinion publique, également pour les espèces aquatiques, or les exigences en matière de santé et de bien-être de ces espèces y sont plus élevées que dans d'autres domaines comme l'aquaculture.

La perception sociétale va avoir des conséquences sur la gestion de la santé des animaux aquatiques en laboratoire, dont la principale est un manque d'intérêt envers ces animaux. Il est plutôt intéressant et informatif de sonder les étudiants vétérinaires dans leur intérêt pour les espèces aquatiques. La majorité répondront qu'ils n'en voient aucun à s'intéresser à la médecine de ces animaux. Peu de professionnels se dirigeront ainsi vers ce domaine.

Heureusement, comme nous l'avons vu, de nombreuses découvertes ont été réalisées chez les organismes aquatiques, que ce soit en recherche fondamentale ou en recherche vétérinaire. Les espèces aquatiques suscitent de plus en plus d'intérêt et les connaissances en santé de ces animaux sont de plus en plus développées. De nombreux outils pour s'assurer de leur bonne santé sont maintenant à disposition des professionnels travaillant avec eux dans les structures de recherche. La profession vétérinaire possède une qualité d'adaptation

indubitable, et bien que pour l'instant relativement nouvelle dans le domaine de la santé des espèces aquatiques, elle aura indéniablement un rôle fondamental à jouer dans son développement. « Qui entend les poissons quand ils pleurent ? » S'il y a bien des personnes qui en sont capables, ce sont les vétérinaires, si tant est qu'ils soient disposés à les écouter.

## Conclusion

Les poissons, céphalopodes et décapodes sont de plus en plus présents dans les structures de recherche. Garantir la santé et le bien-être de ces animaux répond à un triple enjeu éthique, réglementaire et scientifique. Les connaissances sur ces espèces, en particulier sur les modalités d'hébergement, d'entretien et d'élevage en captivité, se sont fortement développées ces dernières années, même si elles sont actuellement focalisées sur certains modèles qui ne peuvent représenter la diversité des espèces utilisées en recherche comportementale et cognitive. Les considérations de santé et de bien-être des animaux aquatiques sont récentes ; la perception sociétale ambivalente des organismes aquatiques, exposée dans ce travail, aboutit pourtant à des exigences plus élevées pour leur utilisation en recherche que pour d'autres domaines comme l'aquaculture ou la pêche.

Notre travail, après une revue bibliographique de l'état de l'art, a consisté à étudier au moyen d'interviews les questionnements et les attentes des professionnels utilisant des espèces aquatiques en recherche comportementale et cognitive. Ces interviews confirment que ces professionnels accordent une attention particulière à la santé des animaux. Ils sont demandeurs de référentiels justifiés, actualisés et adaptés à chaque espèce. Malgré la diffusion des travaux de recherche et l'activité des réseaux associatifs, ils s'estiment souvent isolés sur les problématiques du quotidien. Leur gestion de la santé reste principalement zootechnique, alors qu'elle pourrait bénéficier d'une approche clinique et thérapeutique, y compris à l'échelle de l'individu.

L'hétérogénéité des expériences et des attentes de ces professionnels peut mener à des ambiguïtés et des conflits, en particulier dans leurs relations avec les vétérinaires chargés de les conseiller par la réglementation. La santé et le bien-être animal, indispensables d'un point de vue éthique et scientifique, ne peuvent pourtant que bénéficier d'une combinaison de différentes approches. Il est primordial d'anticiper l'évolution de l'utilisation de ces espèces aquatiques en recherche, en actualisant les référentiels d'hébergement et d'entretien, en développant les compétences vétérinaires et en améliorant le partage d'informations entre professionnels. La profession vétérinaire, de par sa grande capacité d'adaptation et par son intérêt grandissant pour le bien-être animal dans toutes ses dimensions, a de nombreux atouts pour repenser la médecine aquatique. Le plus difficile semble être simplement de se jeter à l'eau.



# Bibliographie

- Adamo, S.A. (2012) 'The effects of the stress response on immune function in invertebrates: An evolutionary perspective on an ancient connection', *Hormones and Behavior*, 62(3), pp. 324–330. doi:10.1016/j.yhbeh.2012.02.012.
- Albus, U. (2012) 'Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (8th edn)', *Laboratory Animals*, 46(3), pp. 267–268. doi:10.1258/la.2012.150312.
- Aleström, P. *et al.* (2020) 'Zebrafish: Housing and husbandry recommendations', *Laboratory Animals*, 54(3), pp. 213–224. doi:10/gf9rmm.
- Allen, C. (2013) 'Fish Cognition and Consciousness', *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 26(1), pp. 25–39. doi:10.1007/s10806-011-9364-9.
- Anderson, J. and Behringer, D. (2013) 'Spatial dynamics in the social lobster *Panulirus argus* in response to diseased conspecifics', *Marine Ecology Progress Series*, 474, pp. 191–200. doi:10/f4m5x8.
- Arrêté du 1<sup>er</sup> février 2013 fixant les conditions de fourniture de certaines espèces animales utilisées à des fins scientifiques aux établissements utilisateurs agréés.* Légifrance
- Arrêté du 1<sup>er</sup> février 2013 fixant les conditions d'agrément, d'aménagement et de fonctionnement des établissements utilisateurs, éleveurs ou fournisseurs d'animaux utilisés à des fins scientifiques et leurs contrôles.* Légifrance.
- Arrêté du 8 octobre 2018 fixant les règles générales de détention d'animaux d'espèces non domestiques.* Légifrance
- Arrêté du 11 août 2006 fixant la liste des espèces, races ou variétés d'animaux domestiques.* Légifrance.
- Ashley, P.J. (2007) 'Fish welfare: Current issues in aquaculture', *Applied Animal Behaviour Science*, 104(3–4), pp. 199–235. doi:10.1016/j.applanim.2006.09.001.
- AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. Leary *et al.*, American Veterinary Medical Association (2020)
- Barcellos, L.J.G. *et al.* (1999) 'The effects of stocking density and social interaction on acute stress response in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings: Stock density and stress response in Nile tilapia L J G Barcellos *et al.* ', *Aquaculture Research*, 30(11–12), pp. 887–892. doi:10.1046/j.1365-2109.1999.00419.x.
- Barcellos, L.J.G. *et al.* (2007) 'Whole-body cortisol increases after direct and visual contact with a predator in zebrafish, *Danio rerio*', *Aquaculture*, 272(1–4), pp. 774–778. doi:10.1016/j.aquaculture.2007.09.002.

- Barcellos, L.J.G. *et al.* (2009) 'Influence of color background and shelter availability on jundiá (*Rhamdia quelen*) stress response', *Aquaculture*, 288(1–2), pp. 51–56. doi:10.1016/j.aquaculture.2008.11.002.
- Barcellos, L.J.G. *et al.* (2011) 'Chemical communication of handling stress in fish', *Physiology & Behavior*, 103(3–4), pp. 372–375. doi:10.1016/j.physbeh.2011.03.009.
- Barreto, R.E., Volpato, G.L. and Pottinger, T.G. (2006) 'The effect of elevated blood cortisol levels on the extinction of a conditioned stress response in rainbow trout', *Hormones and Behavior*, 50(3), pp. 484–488. doi:10.1016/j.yhbeh.2006.06.017.
- Barton, B.A. (2002) 'Stress in Fishes: A Diversity of Responses with Particular Reference to Changes in Circulating Corticosteroids', *Integrative and Comparative Biology*, 42(3), pp. 517–525. doi:10.1093/icb/42.3.517.
- Bayne, K. (2005) 'Potential for Unintended Consequences of Environmental Enrichment for Laboratory Animals and Research Results', *ILAR Journal*, 46(2), pp. 129–139. doi:10.1093/ilar.46.2.129.
- Bayne, K. and Würbel, H. (2014) 'The impact of environmental enrichment on the outcome variability and scientific validity of laboratory animal studies.' *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 33(1), pp 273-280. doi:10/gnw6np.
- Bayne, T. *et al.* (2019) 'What is cognition?', *Current Biology*. doi:10.1016/j.cub.2019.05.044.
- Behringer, D.C. and Butler, M.J. (2010) 'Disease avoidance influences shelter use and predation in Caribbean spiny lobster', *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 64(5), pp. 747–755. doi:10.1007/s00265-009-0892-5.
- Behringer, D.C., Butler, M.J. and Shields, J.D. (2008) 'Ecological and physiological effects of PaV1 infection on the Caribbean spiny lobster (*Panulirus argus* Latreille)', *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 359(1), pp. 26–33. doi:10.1016/j.jembe.2008.02.012.
- Birch, J., Schnell, A.K. and Clayton, N.S. (2020) 'Dimensions of Animal Consciousness', *Trends in Cognitive Sciences*. doi:10.1016/j.tics.2020.07.007.
- Blanc, J. (2018) 'Médecine des poissons d'aquarium et place du vétérinaire dans son développement en France'. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT.
- Bowden, T.J. *et al.* (2007) 'Seasonal variation and the immune response: A fish perspective', *Fish & Shellfish Immunology*, 22(6), pp. 695–706. doi:10.1016/j.fsi.2006.08.016.
- Brando, S.I.C.A. (2012) 'Animal Learning and Training', *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 15(3), pp. 387–398. doi:10.1016/j.cvex.2012.06.008.
- Branson, E.J. (2008) *Fish Welfare*. John Wiley & Sons.
- Bräuer, J. *et al.* (2020) 'Old and New Approaches to Animal Cognition: There Is Not "One Cognition"', *Journal of Intelligence*, 8(3), p. 28. doi:10.3390/jintelligence8030028.

Britt, T. *et al.* (2002) 'Use of pneumocystoplasty for overinflation of the swim bladder in a goldfish', *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 221(5), pp. 690–693, 645. doi:10.2460/javma.2002.221.690.

Broom, D.M. (2001) 'Coping, stress, and welfare', in *Coping with Challenge: Welfare in Animals including Humans*. Berlin: Dahlem University Press (Proceedings of Dahlem Conference), pp. 1–9.

Brown, C. (2015) 'Fish intelligence, sentience and ethics', *Animal Cognition*. doi:10.1007/s10071-014-0761-0.

Brydges, N.M. *et al.* (2009) 'Quantifying stress responses induced by different handling methods in three species of fish', *Applied Animal Behaviour Science*, 116(2–4), pp. 295–301. doi:10/fjvfmj.

Bshary, R., Wickler, W. and Fricke, H. (2002) 'Fish cognition: A primate's eye view', *Animal cognition*. doi:10.1007/s10071-001-0116-5.

Bueno-Guerra, N. (ed.) (2018) *Field and laboratory methods in animal cognition: a comparative guide*. Cambridge ; New York, NY: Cambridge University Press.

Carere, C. and Mather, J.A. (2019) *The welfare of invertebrate animals*. 1st ed. Cham: Springer (Animal welfare, 18).

Cloutier, S. *et al.* (2018) 'Tickling, a Technique for Inducing Positive Affect When Handling Rats', *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (135), p. e57190. doi:10.3791/57190.

Commission Européenne (2021) 'Summary Report on the statistics on the use of animals for scientific purposes in the Member States of the European Union and Norway in 2018'.

Darmaillacq, A.-S. and Dickel, L. (2018) *Cognition animale: perception, raisonnement et représentations*. Malakoff: Dunod (Sciences sup).

Daugette, K.F. *et al.* (2012) 'Positive Reinforcement Training Facilitates the Voluntary Participation of Laboratory Macaws With Veterinary Procedures', *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 26(4), pp. 248–254. doi:10.1647/2011-056.

De Grave, S. *et al.* (2009) 'A Classification of Living and Fossil Genera of Decapod Crustaceans'. *Raffles Bulletin Of Zoology*, Supplement No. 21: 1–109 Available at: <http://repository.si.edu/xmlui/handle/10088/8358>

Direction générale de l'enseignement et de la recherche (2017) 'Référentiel d'activité professionnelle et de compétences à l'issue des études vétérinaires - Annexe de l'arrêté ministériel du 20 avril 2007 relatif aux études vétérinaires'. Ministère de l'agriculture et de l'alimentation.

'Directive 2010/63/EU' (2010). Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, Official Journal of the European Union. Available at: <http://data.europa.eu/eli/dir/2010/63/oj>.

Dolan, K. (1999) *Ethics, animals, and science*. Oxford [England] ; Malden, MA: Blackwell Science.

Dugatkin, L.A., FitzGerald, G.J. and Lavoie, J. (1994) 'Juvenile three-spined sticklebacks avoid parasitized conspecifics', *Environmental Biology of Fishes*, 39(2), pp. 215–218. doi:10.1007/BF00004940.

Egger, B. *et al.* (2011) 'A Sensory Bias Has Triggered the Evolution of Egg-Spots in Cichlid Fishes', *PLOS ONE*, 6(10), p. e25601. doi:10.1371/journal.pone.0025601.

Elwood, R.W., Barr, S. and Patterson, L. (2009) 'Pain and stress in crustaceans?', *Applied Animal Behaviour Science*, 118(3–4), pp. 128–136. doi:10.1016/j.applanim.2009.02.018.

Endo, M. *et al.* (2002) 'Reduced stress and increased immune responses in Nile tilapia kept under self-feeding conditions', *Fisheries Science*, 68(2), pp. 253–257. doi:10.1046/j.1444-2906.2002.00419.x.

Eslamloo, K. *et al.* (2014) 'Variations of physiological and innate immunological responses in goldfish (*Carassius auratus*) subjected to recurrent acute stress', *Fish & Shellfish Immunology*, 37(1), pp. 147–153. doi:10.1016/j.fsi.2014.01.014.

Fanouraki, E., Papandroulakis, N. and Pavlidis, M. (2009) 'Non-invasive stress indicators in Mediterranean mariculture: effect of fish size on water cortisol release rate', *9th Symposium on Oceanography & Fisheries, 2009 - Proceedings, Volume II*.

Farmer, H.L., Murphy, G. and Newbolt, J. (2019) 'Change in stingray behaviour and social networks in response to the scheduling of husbandry events', *Journal of Zoo and Aquarium Research*, 7(4), pp. 203–209. doi:10.19227/jzar.v7i4.441.

Fast, M.D. *et al.* (2008) 'Cortisol response and immune-related effects of Atlantic salmon (*Salmo salar* Linnaeus) subjected to short- and long-term stress', *Fish & Shellfish Immunology*, 24(2), pp. 194–204. doi:10.1016/j.fsi.2007.10.009.

Félix, A.S. *et al.* (2013) 'Noninvasive Measurement of Steroid Hormones in Zebrafish Holding-Water', *Zebrafish*, 10(1), pp. 110–115. doi:10.1089/zeb.2012.0792.

Fewtrell, J.L. and McCauley, R.D. (2012) 'Impact of air gun noise on the behaviour of marine fish and squid', *Marine Pollution Bulletin*, 64(5), pp. 984–993. doi:10.1016/j.marpolbul.2012.02.009.

Filby, A.L. *et al.* (2010) 'Physiological and health consequences of social status in zebrafish (*Danio rerio*)', *Physiology & Behavior*, 101(5), pp. 576–587. doi:10.1016/j.physbeh.2010.09.004.

Fiorito, G. *et al.* (2014) 'Cephalopods in neuroscience: regulations, research and the 3Rs', *Invertebrate Neuroscience*, 14(1), pp. 13–36. doi:10.1007/s10158-013-0165-x.

Fiorito, G. *et al.* (2015) 'Guidelines for the Care and Welfare of Cephalopods in Research –A consensus based on an initiative by CephRes, FELASA and the Boyd Group', *Laboratory Animals*, 49(2\_suppl), pp. 1–90. doi:10.1177/0023677215580006.

- Fossat, P. *et al.* (2014) 'Anxiety-like behavior in crayfish is controlled by serotonin', *Science*, 344(6189), pp. 1293–1297. doi:10.1126/science.1248811.
- Fossat, P. *et al.* (2015) 'Serotonin, but not dopamine, controls stress response and anxiety-like behavior in crayfish, *Procambarus clarkii*.', *Journal of Experimental Biology*, p. jeb.120550. doi:10.1242/jeb.120550.
- France Inter (2018) 'Un poisson réussit pour la première fois le test du miroir', *L'édition carré*. Available at: <https://www.franceinter.fr/emissions/l-edito-carre/l-edito-carre-04-septembre-2018>
- Gestal, C. *et al.* (eds) (2019) *Handbook of Pathogens and Diseases in Cephalopods*. Cham: Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-030-11330-8.
- Gherardi, F. (2009) 'Behavioural indicators of pain in crustacean decapods', *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, 45, pp. 432–438. doi:10.1590/S0021-25712009000400013.
- Gómez-Laplaza, L.M. and Morgan, E. (2005) 'Time–place learning in the cichlid angelfish, *Pterophyllum scalare*', *Behavioural Processes*, 70(2), pp. 177–181. doi:10.1016/j.beproc.2005.02.021.
- Gouveia, K. and Hurst, J.L. (2013) 'Reducing Mouse Anxiety during Handling: Effect of Experience with Handling Tunnels', *PLOS ONE*, 8(6), p. e66401. doi:10.1371/journal.pone.0066401.
- 'Guidelines for the treatment of animals in behavioural research and teaching' (2022) *Animal Behaviour*, 183, p. I–XI. doi:10/gnxpnn.
- Harper, C. and Wolf, J.C. (2009) 'Morphologic Effects of the Stress Response in Fish', *ILAR Journal*, 50(4), pp. 387–396. doi:10.1093/ilar.50.4.387.
- Hawkins, P. *et al.* (2011) 'Guidance on the severity classification of scientific procedures involving fish: Report of a Working Group appointed by the Norwegian Consensus-Platform for the Replacement, Reduction and Refinement of animal experiments (Norecopa)', *Laboratory Animals*, 45(4), pp. 219–224. doi:10.1258/la.2011.010181.
- Herzog, H. (2002) 'Ethical Aspects of Relationships Between Humans and Research Animals', *ILAR Journal*, 43(1), pp. 27–32. doi:10.1093/ilar.43.1.27.
- Hirsch-Hoefler, S. and Mudde, C. (2014) "'Ecoterrorism": Terrorist Threat or Political Ploy?', *Studies in Conflict & Terrorism*, 37(7), pp. 586–603. doi:10.1080/1057610X.2014.913121.
- Hollway, W. and Jefferson, T. (2008) 'The free association narrative interview method'. In: Given, Lisa M. ed. *The SAGE Encyclopedia of Qualitative Research Methods*. Sevenoaks, California: Sage, pp. 296–315.
- Huntingford, F.A. *et al.* (2006) 'Current issues in fish welfare', *Journal of Fish Biology*, 68(2), pp. 332–372. doi:10.1111/j.0022-1112.2006.001046.x.
- Jeangène Vilmer, J.-B. (2008) *Éthique animale*. Paris: Presses universitaires de France (Éthique et philosophie morale).

- Jenkins, J.A. *et al.* (2014) Guidelines for the use of fishes in research. Use of Fishes in Research Committee (joint committee of the American Fisheries Society, the American Institute of Fishery Research Biologists, and the American Society of Ichthyologists and Herpetologists), Bethesda, Maryland, USA: American Fisheries Society.
- Johansen, R. *et al.* (2006) 'Guidelines for health and welfare monitoring of fish used in research', *Laboratory Animals*, 40(4), pp. 323–340. doi:10.1258/002367706778476451.
- Kalueff, A.V., Stewart, A.M. and Gerlai, R. (2014) 'Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders', *Trends in Pharmacological Sciences*. doi:10.1016/j.tips.2013.12.002.
- Kavaliers, M., Choleris, E. and Pfaff, D.W. (2005) 'Genes, odours and the recognition of parasitized individuals by rodents', *Trends in Parasitology*, 21(9), pp. 423–429. doi:10.1016/j.pt.2005.07.008.
- Köhler, A. *et al.* (2017) 'Report of Workshop on Euthanasia for Zebrafish—A Matter of Welfare and Science', *Zebrafish*, 14(6), pp. 547–551. doi:10.1089/zeb.2017.1508.
- Kristiansen, T.S. and Bracke, M.B.M. (2020) 'A Brief Look into the Origins of Fish Welfare Science', in Kristiansen, T.S. *et al.* (eds) *The Welfare of Fish*. Cham: Springer International Publishing (Animal Welfare), pp. 1–17. doi:10.1007/978-3-030-41675-1\_1.
- Kvale, S. (1996) *Interviews: an introduction to qualitative research interviewing*. Thousand Oaks, Calif: Sage Publications.
- Lafferty, K.D. *et al.* (2015) 'Infectious Diseases Affect Marine Fisheries and Aquaculture Economics', *Annual Review of Marine Science*, 7(1), pp. 471–496. doi:10.1146/annurev-marine-010814-015646.
- Laubu, C., Louâpre, P. and Dechaume-Moncharmont, F.-X. (2019) 'Pair-bonding influences affective state in a monogamous fish species', *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 286(1904), p. 20190760. doi:10.1098/rspb.2019.0760.
- Le Parisien (2019) 'Les poissons aussi ont des chagrins d'amour, selon des chercheurs français', 12 June. Available at: <https://www.leparisien.fr/sciences/les-poissons-aussi-ont-des-chagrins-d-amour-selon-des-chercheurs-francais-12-06-2019-8091561.php>
- Lee, C.J., Paull, G.C. and Tyler, C.R. (2022) 'Improving zebrafish laboratory welfare and scientific research through understanding their natural history', *Biological Reviews*, p. brv.12831. doi:10.1111/brv.12831.
- Loh, R. (2014) 'Water quality guide for fish veterinarians', *Companion Animal*, 19(9), pp. 484–485. doi:10.12968/coan.2014.19.9.484.
- Mariana, S., Alfons and Badr, G. (2019) 'Impact of heat stress on the immune response of fishes', *Survey in Fisheries Sciences*, 5(2), pp. 149–159. doi:10.18331/SFS2019.5.2.14.
- McClain, W.R. *et al.* (2005) 'Louisiana Crawfish Production Manual'.
- Mikhalevich, I. and Powell, R. (2020) 'Minds without spines: Evolutionarily inclusive animal ethics', *Animal Sentience*, 5(29). doi:10.51291/2377-7478.1527.

Moltschaniwskyj, N.A. *et al.* (2007) 'Ethical and welfare considerations when using cephalopods as experimental animals', *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 17(2–3), pp. 455–476. doi:10.1007/s11160-007-9056-8.

Mora, C. *et al.* (2011) 'How many species are there on earth and in the ocean?', *PLoS Biology* [Preprint]. doi:10.1371/journal.pbio.1001127.

Moreira, P.S.A. and Volpato, G.L. (2004) 'Conditioning of stress in Nile tilapia', *Journal of Fish Biology*, 64(4), pp. 961–969. doi:10.1111/j.1095-8649.2004.00362.x.

Murray, K. (2015) 'Summary of submissions to the ZIRC Diagnostic Service on The Zebrafish'. International Resource Center webpage. Available at: <http://zebrafish.org/health/diseaseManual.php>

Naudet, J. (2018) 'Etude des indicateurs d'émotions positives dans l'évaluation du bien-être animal chez les espèces aquatiques en captivité, exploration de nouveaux indicateurs d'émotions chez la seiche *Sepia officinalis*'. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon - VetAgro Sup.

Neal Webb, S.J., Hau, J. and Schapiro, S.J. (2019) 'Relationships between captive chimpanzee (*Pan troglodytes*) welfare and voluntary participation in behavioural studies', *Applied Animal Behaviour Science*, 214, pp. 102–109. doi:10/gnw6ns.

Noga, E.J. (2010) *Fish disease: diagnosis and treatment*. 2nd ed. Oxford: Wiley-Blackwell.

North, B.P. *et al.* (2006) 'The impact of stocking density on the welfare of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)', *Aquaculture*, 255(1), pp. 466–479. doi:10.1016/j.aquaculture.2006.01.004.

O'Brien, C.E. *et al.* (2017) 'Behavioral development in embryonic and early juvenile cuttlefish (*Sepia officinalis*)', *Developmental Psychobiology* [Preprint]. doi:10.1002/dev.21476.

Omeji, S., Apochi, J.O. and Egwumah, K.A. (2017) 'Stress concept in transportation of live fishes – a review', *Journal of Research in Forestry, Wildlife and Environment*, 9(2), pp. 57–64.

Ortega, V.A., Renner, K.J. and Bernier, N.J. (2005) 'Appetite-suppressing effects of ammonia exposure in rainbow trout associated with regional and temporal activation of brain monoaminergic and CRF systems', *Journal of Experimental Biology*, 208(10), pp. 1855–1866. doi:10.1242/jeb.01577.

Padgett, D.A. and Glaser, R. (2003) 'How stress influences the immune response', *Trends in Immunology*, 24(8), pp. 444–448. doi:10.1016/S1471-4906(03)00173-X.

Pascual, S., González, A. and Guerra, A. (2007) 'Parasites and cephalopod fisheries uncertainty: towards a waterfall understanding', *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 17(2–3), pp. 139–144. doi:10.1007/s11160-006-9021-y.

'Paul le poulpe' (2022) *Wikipédia*. Available at: [https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Paul\\_le\\_poulpe&oldid=189984232](https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Paul_le_poulpe&oldid=189984232)

- Pavlidis, M. *et al.* (2013) 'Husbandry of Zebrafish, *Danio Rerio*, and the Cortisol Stress Response', *Zebrafish*, 10(4), pp. 524–531. doi:10.1089/zeb.2012.0819.
- Percie du Sert, N. *et al.* (2020) 'The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research\*', *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 40(9), pp. 1769–1777. doi:10/gm99sg.
- Poirier, G.M. *et al.* (2015) 'ESLAV/ECLAM/LAVA/EVERI recommendations for the roles, responsibilities and training of the laboratory animal veterinarian and the designated veterinarian under Directive 2010/63/EU', *Laboratory Animals*, 49(2), pp. 89–99. doi:10.1177/0023677214557717.
- Poole, T. (1997) 'Happy animals make good science', *Laboratory Animals* (31), pp. 116–124.
- van Praag, H., Kempermann, G. and Gage, F.H. (2000) 'Neural consequences of environmental enrichment', *Nature Reviews Neuroscience*, 1(3), pp. 191–198. doi:10.1038/35044558.
- Rabionet, S.E. (2011) 'How I Learned to Design and Conduct Semi-Structured Interviews: An Ongoing and Continuous Journey', *Qualitative Report*, 16(2), pp. 563–566.
- Ramsay, J.M. *et al.* (2006) 'Whole-body cortisol is an indicator of crowding stress in adult zebrafish, *Danio rerio*', *Aquaculture*, 258(1–4), pp. 565–574. doi:10.1016/j.aquaculture.2006.04.020.
- Ramsay, J.M. *et al.* (2009) 'Husbandry stress exacerbates mycobacterial infections in adult zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton)', *Journal of Fish Diseases*, 32(11), pp. 931–941. doi:10.1111/j.1365-2761.2009.01074.x.
- Readman, G.D. *et al.* (2017) 'Species specific anaesthetics for fish anaesthesia and euthanasia', *Scientific Reports*, 7(1), p. 7102. doi:10.1038/s41598-017-06917-2.
- Roberts, R.J. (2012) *Fish Pathology, 4th Edition*. Wiley - Blackwell.
- Rottman, R.W., Francis-Floyd, R. and Durborow, R. (1992) 'The role of stress in fish disease', *Southern Regional Aquaculture Center*.
- Rowley, J. (2012) 'Conducting research interviews', *Management Research Review*, 35(3/4), pp. 260–271. doi:10.1108/01409171211210154.
- Russel, W. and Burch, R. (1959) 'The Principles of Humane Experimental Technique; as reprinted 1992'. Universities Federation for Animal Welfare: Wheathampstead, UK.
- Rutz, C. and Webster, M.M. (2021) 'Ethology adopts the STRANGE framework for animal behaviour research, to improve reporting standards', *Ethology*, 127(2), pp. 99–101. doi:10.1111/eth.13118.
- Sabbah, S. *et al.* (2010) 'Functional diversity in the color vision of cichlid fishes', *BMC Biology*, 8(1), p. 133. doi:10.1186/1741-7007-8-133.

- Sánchez, J.A. *et al.* (2009) 'Effects of feeding schedule on locomotor activity rhythms and stress response in sea bream', *Physiology & Behavior*, 98(1–2), pp. 125–129. doi:10.1016/j.physbeh.2009.04.020.
- Schluessel, V. *et al.* (2022) 'Cichlids and stingrays can add and subtract "one" in the number space from one to five', *Scientific Reports*, 12(1), p. 3894. doi:10.1038/s41598-022-07552-2.
- Schnell, A.K. and Clayton, N.S. (2021) 'Cephalopods: Ambassadors for rethinking cognition', *Biochemical and Biophysical Research Communications*. doi:10.1016/j.bbrc.2020.12.062.
- Scott, A.P. *et al.* (2008) 'Non-Invasive Measurement of Steroids in Fish-Holding Water: Important Considerations When Applying the Procedure to Behaviour Studies', *Behaviour*, 145(10), pp. 1307–1328.
- Scott, A.P., Pinillos, M. and Ellis, T. (2001) 'Why measure steroids in fish plasma when you can measure them in water', *Perspectives in comparative endocrinology: unity and diversity: the proceedings of the 14th international congress of comparative endocrinology*, pp. 26–30.
- Shelley, C. and Lovatelli, A. (2011) 'Mud crab aquaculture: A practical manual'. Available at: <https://www.proquest.com/openview/dff87662f87906be34970a9529b47168/1?pq-origsite=gscholar&cbl=237320>
- Shettleworth, S.J. (2010) *Cognition, evolution, and behavior, 2nd ed., Cognition, evolution, and behavior, 2nd ed.*
- Slack, M.K. and Draugalis, J.R. (2001) 'Establishing the internal and external validity of experimental studies', *American Journal of Health-System Pharmacy*, 58(22), pp. 2173–2181. doi:10.1093/ajhp/58.22.2173.
- Smith, D. *et al.* (2018) 'Classification and reporting of severity experienced by animals used in scientific procedures: FELASA/ECLAM/ESLAV Working Group report', *Laboratory Animals*, 52(1\_suppl), pp. 5–57. doi:10.1177/0023677217744587.
- Smith, J.A. *et al.* (2013) 'Cephalopod research and EU Directive 2010/63/EU: Requirements, impacts and ethical review', *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 447, pp. 31–45. doi:10.1016/j.jembe.2013.02.009.
- Smith, S.A. (2019) *Fish Diseases and Medicine*. CRC Press.
- de Souza Valente, C. and Wan, A.H.L. (2021) 'Vibrio and major commercially important vibriosis diseases in decapod crustaceans', *Journal of Invertebrate Pathology*, 181, p. 107527. doi:10.1016/j.jip.2020.107527.
- Spagnoli, S., Sanders, J. and Kent, M.L. (2017) 'The common neural parasite *Pseudoloma neurophilia* causes altered shoaling behaviour in adult laboratory zebrafish (*Danio rerio*) and its implications for neurobehavioural research', *Journal of Fish Diseases*, 40(3), pp. 443–446. doi:10.1111/jfd.12512.

- Stevens, C.H. *et al.* (2017) 'Stress and welfare in ornamental fishes: what can be learned from aquaculture?: stress and welfare in ornamental fishes', *Journal of Fish Biology*, 91(2), pp. 409–428. doi:10/gnw6nq.
- Stewart, A.M. *et al.* (2014) 'Developing zebrafish models of autism spectrum disorder (ASD)', *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. doi:10.1016/j.pnpbp.2013.11.014.
- Thornton, A. and Lukas, D. (2012) 'Individual variation in cognitive performance: developmental and evolutionary perspectives', *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 367(1603), pp. 2773–2783. doi:10.1098/rstb.2012.0214.
- Toa, D.G., Afonso, L.O.B. and Iwama, G.K. (2004) 'Stress response of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to chemical cues released from stressed conspecifics', *Fish Physiology and Biochemistry*, 30(2), pp. 103–108. doi:10.1007/s10695-005-0266-5.
- Tobler, M. and Schlupp, I. (2007) 'Influence of black spot disease on shoaling behaviour in female western mosquitofish, *Gambusia affinis* (Poeciliidae, Teleostei)', *Environmental Biology of Fishes*, 81(1), pp. 29–34. doi:10.1007/s10641-006-9153-x.
- Union Européenne (2009) *Traité de Lisbonne*. Available at: <https://www.europarl.europa.eu/about-parliament/fr/in-the-past/the-parliament-and-the-treaties/treaty-of-lisbon>
- Vatsos, I.N. *et al.* (2010) 'Monitoring stress in fish by applying image analysis to their skin mucous cells', *European Journal of Histochemistry*, 54(2), p. 22. doi:10.4081/ejh.2010.e22.
- Venkatesh, B. (2003) 'Evolution and diversity of fish genomes', *Current Opinion in Genetics & Development*, 13(6), pp. 588–592. doi:10.1016/j.gde.2003.09.001.
- Vettese, T., Franks, B. and Jacquet, J. (2020) 'The Great Fish Pain Debate', *Issues in Science and Technology*, 36(4), pp. 49–53.
- Vila Pouca, C. and Brown, C. (2017) 'Contemporary topics in fish cognition and behaviour', *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 16, pp. 46–52. doi:10.1016/j.cobeha.2017.03.002.
- Voipio *et al.* Members Of The Joint Working Group On Veterinary Care (2008) 'Guidelines for the veterinary care of laboratory animals: Report of the FELASA/ECLAM/ESLAV Joint Working Group on Veterinary Care', *Laboratory Animals*, 42(1), pp. 1–11. doi:10.1258/la.2007.007027.
- Wadiwel, D.J. (2016) 'Fish and pain: The politics of doubt', *Animal Sentience*, 1(3). doi:10.51291/2377-7478.1054.
- Ward, A.J.W. *et al.* (2002) 'The effects of parasitism and body length on positioning within wild fish shoals', *Journal of Animal Ecology*, 71(1), pp. 10–14. doi:10/db882m.
- Webster, M.M. and Rutz, C. (2020) 'How STRANGE are your study animals?', *Nature*, 582(7812), pp. 337–340. doi:10.1038/d41586-020-01751-5.

Weineck, K. *et al.* (2018) 'Physiological Changes as a Measure of Crustacean Welfare under Different Standardized Stunning Techniques: Cooling and Electroshock', *Animals*, 8(9), p. 158. doi:10.3390/ani8090158.

Wildgoose, W.H. (2001) *BSAVA manual of ornamental fish*. 2nd ed. Gloucester: British small animal veterinary association.

Wilson, C.A. *et al.* (2014) 'Wild Sex in Zebrafish: Loss of the Natural Sex Determinant in Domesticated Strains', *Genetics*, 198(3), pp. 1291–1308. doi:10.1534/genetics.114.169284.

Wilson, C.H. *et al.* (2021) 'Effects of handling during experimental procedures on stress indices in the green shore crab, *Carcinus maenas* (L)', *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 54(2), pp. 65–86. doi:10.1080/10236244.2021.1923369.

Würbel, H. (2017) 'More than 3Rs: the importance of scientific validity for harm-benefit analysis of animal research', *Lab Animal*, 46(4), pp. 164–166. doi:10.1038/labon.1220.

Xu, J. *et al.* (2006) 'Behavioral responses of tilapia (*Oreochromis niloticus*) to acute fluctuations in dissolved oxygen levels as monitored by computer vision', *Aquacultural Engineering*, 35(3), pp. 207–217. doi:10.1016/j.aquaeng.2006.02.004.

Young, T. *et al.* (2019) 'Impact of acute handling stress, anaesthesia, and euthanasia on fish plasma biochemistry: implications for veterinary screening and metabolomic sampling', *Fish Physiology and Biochemistry*, 45(4), pp. 1485–1494. doi:10.1007/s10695-019-00669-8.



# Annexes

## Annexe 1 : Paramètres physico-chimiques de l'eau pour différentes espèces

		Température (°C)	Ammoniac (mg/L)	Nitrite (mg/L)	Nitrate (mg/L)	pH	Dureté carbonatée KH (mg/L)	Dureté totale GH (mg/L)	Salinité (g/L)
<b>Poissons</b>	Eau douce tropicale générale <sup>1</sup>	24-28	< 0,2	< 0,2	< 50	6,5-7,5	70-100	100-200	0
	Eau douce amazonienne <sup>1</sup>	24-28	< 0,2	< 0,2	< 50	6,5-6,8	70-100	80-150	0
	Eau douce africaine <sup>1</sup>	24-28	< 0,2	< 0,2	< 50	8,0-8,2	125-225	300-500	0
	Poissons rouges et carpes koïs <sup>1</sup>	20-24	< 0,2	< 0,2	< 50	6,5-7,5	70-150	150-200	0-5
	Récif tropical marin <sup>1</sup>	24-25	0	0	5-10	8,2-8,5	125-225	Calcium 380-450 Magnésium 1200-1300	30-35
	Poissons zèbres <sup>2</sup>	24-29	< 0,1	< 0,3	< 25	6,5-8	70-90	50-150	0-1
<b>Céphalopodes</b>	<i>Nautilus sp.</i> <sup>3</sup>	14-26	< 0,1	< 0,1	< 20	8-8,5	NF	NF	34-36
	Seiches <sup>3</sup>	12-25	< 0,5	< 0,2	< 80	7,8-8,1	NF	NF	29-33
	Calmars <sup>3</sup>	NF	< 0,01	< 0,1	< 40	7,8-8,3	NF	NF	30-36
	Pieuvres <sup>3</sup>	16-26	< 0,1	< 0,1	< 20	7,9-8,3	NF	NF	32-35

Décapodes	Ecrevisses de Louisiane <sup>4</sup>	10-25	< 2ppm	< 5ppm	NF	6,5-8,5	50-250	50-250	< 3
	<i>Scylla serrata</i> , crabes des palétuviers <sup>5</sup>	25-35	< 0,25	< 10	NF	7,5-9	> 80	> 2000	10-25

NF : non fourni

1. D'après Loh, 2014
2. D'après Alestrom et al, 2019
3. D'après Fiorito et al., 2015. Les températures doivent être choisies en fonction des espèces. Les valeurs de pH doivent être aux alentours de celles du site de prélèvement des animaux.
4. D'après McClain *et al.*, 2005
5. D'après Shelley & Lovatelli, 2011

Les valeurs des paramètres de qualité de l'eau pour les décapodes ont été trouvées uniquement pour des espèces aquacoles.

## Annexe 2 : Fiche d'examen clinique individuel pour les espèces aquatiques

---

*Cette fiche est un guide pour réaliser l'examen clinique d'animaux aquatiques. Chaque groupe d'espèces est différent et certaines des sections ci-après ne pourront être évaluées chez certaines espèces. Il s'agit plus d'un aide-mémoire pour s'assurer de réaliser un examen le plus complet possible. D'après Wildgoose (2001) et Blanc (2018)*

### **Examen à distance :**

#### Examen comportemental :

Localisation dans l'aquarium :

Posture :

Activité locomotrice générale (diminuée, augmentée, anormale, se cache...) :

Réactivité aux stimuli :

Comportements anormaux (scraping, piping, soutien contre des éléments du décor ou des parois de l'aquarium...) :

Interactions sociales (de l'individu envers les autres membres du groupe et des membre du groupe envers l'individu) :

Nage et position dans la colonne d'eau :

Appétit (intérêt, quantité, rapidité, tri...) :

#### Appareil respiratoire :

Fréquence respiratoire :

Amplitude respiratoire :

Aspect externe :

Couleur :

Qualité du camouflage (texture, rapidité des modifications...) :

Lésions visibles à distance (distensions abdominales, exophtalmie...) :

**Examen rapproché :**

Aspect externe :

État corporel (engraissement, musculature) :

Anomalies morphologiques (distensions...) :

Tégument :

Mucus :

Couleur :

Lésions (irritations, érosions et ulcères, hyperplasies, nodules et masses, pétéchies, parasites...) :

Raclage et examen microscopique :

Membres :

Mobilité des membres :

Lésions (fractures, déchirements, épaissements, saignements, nécroses, parasites...) :

Bouche :

Pores sensoriels :

Yeux :

Aspect global (exophtalmie...) :

Lésions (érosions, ulcères, hémorragies...) :

Test à la fluorescéine :

Examen à l'ophtalmoscope :

Appareil respiratoire :

Qualité des mouvements respiratoires :

*Pour les poissons*

Opercules :

Branchies

Couleur :

Mucus :

Lésions :

Examen microscopique :

Organes internes :

Palpation :

Fonction cardiaque :

Examen Doppler :

## Annexe 3 : Tableau de suivi d'élevage du laboratoire de Konstanz, Allemagne

*Ce tableau est le tableau rempli quotidiennement par les soigneurs animaliers du laboratoire de Konstanz s'occupant des cichlidés africains. Les trois premières lignes sont remplies quotidiennement, les autres de manière hebdomadaire ou mensuelle.*

	Date		
Nourrissage et vérification			
Contrôle de santé			
Niveau de l'eau et remplissage			
Contrôle et nettoyage des filtres			
Contrôle et nettoyage des pompes			
Contrôle de la désinfection UV-C			
Changement d'eau			
Nettoyage des filets			
Nettoyage de la salle et du sol			
Changement des outils			
Calibrage des lumières			
Calibrage de la sonde pH			
Calibrage de la température			

## Annexe 4 : Guide pour les interviews avec les chercheurs (francophone)

---

*Ce document est un guide utilisé pendant les interviews des chercheuses et chercheurs. Il n'a pas été suivi à la lettre, son but étant de s'assurer de couvrir tous les sujets d'intérêt dans le laps de temps imparti, et de posséder quelques questions afin de relancer la discussion si besoin. Des durées indicatives sont indiquées pour chaque thème afin de gérer le temps au mieux.*

### **Introduction :**

Présentation du cursus  
Présentation de la thèse et des objectifs du projet  
Présentation des objectifs de l'interview et de son déroulement  
Présentation de la démarche *a posteriori*

*Rappeler qu'aucune question n'est obligatoire et qu'il est possible de revenir ses propos à n'importe quel moment*

*Demander les contraintes horaires pour adapter le timing de l'interview*

*Rappeler la possibilité d'anonymat*

*Demander la permission d'enregistrer*

### **Présentation de l'interviewé(e) : (5 min)**

Fonction  
Description des sujets de recherche  
Descriptions du laboratoire (quels types et combien d'espèces et d'animaux, description des locaux, quel est le personnel en contact avec les animaux)

### **Rôles et responsabilité des acteurs : (10min)**

Quel sont les rôles et responsabilités d'un chercheur ? D'un vétérinaire de laboratoire ? D'un soigneur animalier ou technicien ?

Quelles sont la nature et la fréquence de vos interactions avec le, la ou les vétérinaires ?

Quand faites-vous appel à lui (problématiques de santé des animaux, conception et mise en œuvre des procédures expérimentales...) ?

Quelles sont la nature et la fréquence de vos interactions avec les soigneurs ou techniciens ?

### **Point de vue personnel sur l'importance de la santé en recherche comportementale et cognitive : (10min)**

Comment pensez-vous que la santé des animaux puisse impacter la validité scientifique des expériences ?

Avez-vous déjà été confronté(e) à des problèmes de santé qui ont affecté vos expériences ?

Pensez-vous que le bien-être et la santé des animaux sont en opposition avec des impératifs expérimentaux ou de productivité de la recherche ?

Pensez-vous que la santé est un sujet bien appréhendé et couramment discuté en recherche animale ?

Qu'est-ce que vos expériences impliquent généralement pour les animaux ? Procédez-vous à des procédures pouvant être qualifiées de procédures vétérinaires (prise de sang, injections, anesthésies, chirurgies...) ? Comment vous assurez-vous que vos expériences soient faites dans les meilleures conditions pour l'animal ?

Quelle est la nature de vos interactions avec les animaux ? Utilisez-vous régulièrement du renforcement positif ?

### **Santé des animaux dans votre laboratoire : (10min)**

Quels sont les problèmes de santé les plus courants auxquels vous êtes confrontés ? Comment les gérez-vous ?

Comment évaluez-vous la santé des animaux de votre laboratoire (observations quotidiennes, recherches d'agents pathogènes régulières...) ?

Réalisez-vous plutôt de la médecine de population ou de la médecine individuelle ? Quels sont les critères pour l'un ou l'autre type de médecine ?

Avez-vous déjà eu recours à des traitements médicamenteux ?

Adaptez-vous les conditions d'élevage à chaque espèce ? Si oui, comment ?

### **Législation : (5min)**

Quel est votre point-de-vue sur la législation concernant les espèces aquatiques ? Quelles sont vos satisfactions et points bloquants ?

Voyez-vous une évolution de la législation dans les années à venir ?

### **Connaissances : (5min)**

Que faites-vous face à une espèce ou un problème de santé que vous n'avez jamais rencontré auparavant ?

Quelles sont vos sources de connaissances sur le bien-être et la santé des espèces aquatiques ?

Avez-vous eu accès à des formations dans le cadre du développement professionnel continu ?

Quelles sont vos opinions sur ces différentes sources : formations initiales, formations continues, expérience personnelle, littérature, échanges avec d'autres professionnels ?

### **Perception des animaux aquatiques : (5min)**

Que pensez-vous de la perception des animaux aquatiques dans la société ? Dans les laboratoires ?

Cette perception impacte-t-elle votre travail ? Si oui, dans quel sens ?

Comment voyez-vous le monde de la santé des espèces aquatiques évoluer dans les prochaines années ?

**Fin :**

Pensez-vous à d'autres sujets d'importance dont nous n'aurions pas discuté ?

Qu'aimeriez-vous savoir de la part d'autres collègues chercheurs, vétérinaires, soigneurs et techniciens ?

## Annexe 5 : Guide pour les interviews avec les vétérinaires (francophone)

---

*Ce document est un guide utilisé pendant les interviews des vétérinaires. Il n'a pas été suivi à la lettre, son but étant de s'assurer de couvrir tous les sujets d'intérêt dans le laps de temps imparti, et de posséder quelques questions afin de relancer la discussion si besoin. Des durées indicatives sont indiquées pour chaque thème afin de gérer le temps au mieux.*

### **Introduction :**

Présentation du cursus  
Présentation de la thèse et des objectifs du projet  
Présentation des objectifs de l'interview et de son déroulement  
Présentation de la démarche *a posteriori*

*Rappeler qu'aucune question n'est obligatoire et qu'il est possible de revenir ses propos à n'importe quel moment*

*Demander les contraintes horaires pour adapter le timing de l'interview*

*Rappeler la possibilité d'anonymat*

*Demander la permission d'enregistrer*

### **Présentation de l'interviewé(e) : (5 min)**

Fonction  
Description de la structure de travail

### **Rôles et responsabilité des acteurs : (10min)**

Quelle est votre place dans le(s) établissement(s) (permanent/vacataire ; membre ponctuel ou permanent des comités d'éthique ou des structures Bien-Être Animal) et vos activités reconnues par les autorités (vétérinaire désigné, membre comité d'éthique, responsable bien-être animal, responsable pharmacie...)?

Quelle est la fréquence/durée de vos interventions et leurs types (réunions en visioconférence, visites, réunions sur projet...)

Quelle est la fréquence et la nature de vos interactions avec les chercheurs ?

Etes-vous invité à des réunions scientifiques (pour mieux appréhender les attentes des chercheurs ?)

Avez-vous prévu des délégations d'actes à des techniciens relais vétérinaires ?

Quelles sont vos missions (suivi sanitaire *sensu stricto*, formation du personnel, conseil technique aux procédures, conseil technique sur la conception de l'établissement, l'équipement et le fonctionnement des installations, activité spécialisée type imagerie ou chirurgie...)

## **Point de vue personnel sur l'importance de la santé en recherche comportementale et cognitive : (10min)**

Comment pensez-vous que la santé des animaux puisse impacter la validité scientifique des expériences ?

Pensez-vous que le bien-être et la santé des animaux sont en opposition avec des impératifs expérimentaux ou de productivité de la recherche ?

Pensez-vous que la santé est un sujet bien appréhendé et couramment discuté en recherche animale ?

Quelle est la nature de vos interactions avec les animaux ? Utilisez-vous régulièrement du renforcement positif ?

## **Santé des animaux utilisés à des fins scientifiques : (10min)**

Quels sont les problèmes de santé les plus courants auxquels vous êtes confrontés ? Comment les gérez-vous ?

Comment évaluez-vous la santé des animaux des laboratoires (observations quotidiennes, recherches d'agents pathogènes régulières...) ?

Réalisez-vous plutôt de la médecine de population ou de la médecine individuelle ? Quels sont les critères pour l'un ou l'autre type de médecine ?

Avez-vous déjà eu recours à des traitements médicamenteux ? des traitements chirurgicaux ?

## **Législation : (5min)**

Quel est votre point-de-vue sur la législation concernant les espèces aquatiques ? Quelles sont vos satisfactions et points bloquants ?

Voyez-vous une évolution de la législation dans les années à venir ?

## **Connaissances : (5min)**

Que faites-vous face à une espèce ou un problème de santé que vous n'avez jamais rencontré auparavant ?

Quelles sont vos sources de connaissances sur le bien-être et la santé des espèces aquatiques ?

Avez-vous eu accès à des formations vous permettant de vous spécialiser en médecine des animaux utilisés à des fins scientifiques ? des animaux aquatiques ? en recherche scientifique ?

Quelles sont vos opinions sur ces différentes sources : formations initiales, formations continues, expérience personnelle, littérature, échanges avec d'autres professionnels ?

## **Perception des animaux aquatiques : (5min)**

Que pensez-vous de la perception des animaux aquatiques dans la société ? Dans les laboratoires ?

Cette perception impacte-t-elle votre travail ? Si oui, dans quel sens ?

Comment voyez-vous le monde de la santé des espèces aquatiques évoluer dans les prochaines années ?

**Fin :**

Pensez-vous à d'autres sujets d'importance dont nous n'aurions pas discuté ?

Qu'aimeriez-vous savoir de la part d'autres collègues chercheurs, vétérinaires, soigneurs et techniciens ?

## Annexe 6 : Guide pour les interviews avec les soigneurs animaliers et techniciens (francophone)

---

*Ce document est un guide utilisé pendant les interviews des soigneurs animaliers et techniciens. Il n'a pas été suivi à la lettre, son but étant de s'assurer de couvrir tous les sujets d'intérêt dans le laps de temps imparti, et de posséder quelques questions afin de relancer la discussion si besoin. Des durées indicatives sont indiquées pour chaque thème afin de gérer le temps au mieux.*

### **Introduction :**

Présentation du cursus  
Présentation de la thèse et des objectifs du projet  
Présentation des objectifs de l'interview et de son déroulement  
Présentation de la démarche *a posteriori*

*Rappeler qu'aucune question n'est obligatoire et qu'il est possible de revenir ses propos à n'importe quel moment*  
*Demander les contraintes horaires pour adapter le timing de l'interview*  
*Rappeler la possibilité d'anonymat*  
*Demander la permission d'enregistrer*

### **Présentation de l'interviewé(e) : (5 min)**

Fonction  
Descriptions du laboratoire (quels types et combien d'espèces et d'animaux, description des locaux, quel est le personnel en contact avec les animaux)

### **Rôles et responsabilité des acteurs : (10min)**

Quel sont les rôles et responsabilités d'un soigneur animalier ou technicien ? D'un vétérinaire de laboratoire ? D'un chercheur ?  
Quelles sont vos missions (soins ? procédures techniques ? participation aux expériences ?)  
Quelles sont la nature et la fréquence de vos interactions avec le, la ou les vétérinaires ?  
Quand faites-vous appel à lui ?  
Quelles sont la nature et la fréquence de vos interactions avec les chercheurs ?

### **Point de vue personnel sur l'importance de la santé en recherche comportementale et cognitive : (10min)**

Comment pensez-vous que la santé des animaux puisse impacter la validité scientifique des expériences ?  
Avez-vous déjà été confronté(e) à de tels problèmes dans le laboratoire ?  
Pensez-vous que le bien-être et la santé des animaux sont en opposition avec des impératifs expérimentaux ou de productivité de la recherche ?

Pensez-vous que la santé est un sujet bien appréhendé et couramment discuté en recherche animale ?

Quelle est la nature de vos interactions avec les animaux ? Utilisez-vous régulièrement du renforcement positif ?

### **Santé des animaux dans votre laboratoire : (10min)**

Quels sont les problèmes de santé les plus courants auxquels vous êtes confrontés ? Comment les gérez-vous ?

Comment évaluez-vous la santé des animaux de votre laboratoire (observations quotidiennes, recherches d'agents pathogènes régulières...) ?

Réalisez-vous plutôt de la médecine de population ou de la médecine individuelle ? Quels sont les critères pour l'un ou l'autre type de médecine ?

Avez-vous déjà eu recours à des traitements médicamenteux ?

Adaptez-vous les conditions d'élevage à chaque espèce ? Si oui, comment ?

### **Législation : (5min)**

Quel est votre point-de-vue sur la législation concernant les espèces aquatiques ? Quelles sont vos satisfactions et points bloquants ?

Voyez-vous une évolution de la législation dans les années à venir ?

### **Connaissances : (5min)**

Que faites-vous face à une espèce ou un problème de santé que vous n'avez jamais rencontré auparavant ?

Quelles sont vos sources de connaissances sur le bien-être et la santé des espèces aquatiques ?

Avez-vous eu accès à des formations spécifiques pour assurer les soins d'espèces aquatiques ?

Quelles sont vos opinions sur ces différentes sources : formations initiales, formations continues, expérience personnelle, littérature, échanges avec d'autres professionnels ?

### **Perception des animaux aquatiques : (5min)**

Que pensez-vous de la perception des animaux aquatiques dans la société ? Dans les laboratoires ?

Cette perception impacte-t-elle votre travail ? Si oui, dans quel sens ?

Comment voyez-vous le monde de la santé des espèces aquatiques évoluer dans les prochaines années ?

### **Fin :**

Pensez-vous à d'autres sujets d'importance dont nous n'aurions pas discuté ?

Qu'aimeriez-vous savoir de la part d'autres collègues chercheurs, vétérinaires, soigneurs et techniciens ?

## Annexe 7 : Cas clinique, Inversion aigüe de flottabilité chez un cichlidé mâle adulte *Lamprologus ornatipinnis*

---

*Ce cas a été rencontré lors d'un stage de Master effectué en 2022. Nous allons illustrer ici comment la réflexion vétérinaire peut être adaptée à des problèmes de santé individuels rencontrés en laboratoire.*

**Commémoratifs** : Bowey est un poisson cichlidé *L. ornatipinnis* adulte mâle capturé dans le lac Tanganyika en Zambie le 14 avril 2022 et amené à un laboratoire de terrain en Zambie ce même jour. A son arrivée, il a été placé dans un aquarium avec un autre mâle *L. ornatipinnis* capturé le même jour. Les examens cliniques d'arrivée de ces deux individus étaient sans anomalie.

**Anamnèse** : Le 22 avril à 14h, Bowey est retrouvé sur le dos au fond de l'aquarium. Deux heures auparavant, une structure d'isolation transparente avait été placée autour de lui et de sa coquille pendant une dizaine de minutes. Il en était ressorti sans anomalie.

### **Examen clinique** :

L'examen clinique a été réalisé selon la procédure présentée en **Annexe 2**. L'examen rapproché a été réalisé sans sédation pour une évaluation rapide de l'état de l'animal.

La seule anomalie présente à l'examen clinique est la posture anormale (sur le dos). L'animal est réactif et la nage est toujours possible mais sur le dos. Il semble revenir rapidement au fond de l'aquarium ce qui suggérerait une flottabilité négative. L'autre individu de l'aquarium ne présente aucune anomalie.



Présentation de l'individu en décubitus dorsal

### **Hypothèses diagnostiques** : D'après Smith, 2019

- Atteinte de la vessie natatoire (dysrégulation métabolique, infections bactérienne, virale, parasitaire ou mycotique, barotraumatisme, torsion, néoplasie, obstruction)
- Atteinte musculaire ou nerveuse
- Atteinte digestive (accumulation de gaz dans le tube digestif par contrainte mécanique ou infections)

D'après les signes cliniques, notre hypothèse principale est une atteinte aigüe de la vessie natatoire. Les cichlidés sont physoclistes, c'est-à-dire qu'il n'y a pas de lien direct entre l'œsophage et la vessie natatoire. Les échanges gazeux vont être uniquement réalisés avec la circulation sanguine. L'état clinique de l'animal penche vers une dysrégulation de ces échanges, due notamment à une perturbation de l'équilibre acido-basique sanguin, ou une torsion de la vessie natatoire. Ces affections peuvent être causées par un stress.

### **Prise en charge :**

Une physiothérapie (placement de l'animal dans une posture naturelle) a été mise en place pendant une dizaine de minutes avec une amélioration notable. L'animal a ensuite été placé en hospitalisation avec une coquille qui lui permettait de prendre appui et de rectifier sa posture.

### **Évolution :**

Après une nuit en hospitalisation, l'individu a totalement retrouvé sa posture normale et nage normalement. Il a été replacé dans son aquarium mais a tout de suite subi des agressions de la part de son ancien compagnon. Ces agressions ayant peut-être été la cause de l'affection aigüe de flottabilité, il a été décidé de séparer les deux individus. Bowey n'a plus jamais présenté ces symptômes.

### **Discussions :**

Nous avons ainsi pu présenter un exemple d'approche vétérinaire face à un problème de santé individuel. Au final, un aquariophile aurait eu la même gestion de placer l'animal en quarantaine et obtenu les mêmes résultats, mais la réflexion n'aurait pas été si poussée. Si la posture de Bowey n'avait pas été rectifiée, des examens complémentaires auraient pu être réalisés, et notamment une radiographie qui aurait été très informative pour localiser l'accumulation de gaz. Des traitements médicaux comme des antibiotiques pour lutter contre une probable infection auraient pu être mis en place. Une chirurgie de la vessie natatoire aurait également été possible (Britt *et al.*, 2002).

Ce cas est également intéressant pour questionner la valeur de l'animal de laboratoire. En effet, il aurait été simple d'euthanasier Bowey et de le remplacer par un autre individu. Cependant, outre les problèmes éthiques évidents, Bowey et son compagnon d'aquarium étaient parmi les rares individus ayant réussi la tâche d'apprendre à se nourrir dans une coquille (cf **Encart 2**). A la suite de l'isolation des deux individus, aucun des deux n'a de nouveau réussi cette tâche et ils ont donc été retirés des expérimentations. Ils auraient sûrement continués à se nourrir dans une coquille s'ils étaient restés dans le même aquarium, le mécanisme de facilitation sociale s'étant avéré plutôt efficace dans cette tâche, mais le bien-être de Bowey qui aurait été fréquemment agressé n'aurait pas pu être assuré.



# IMPACT DE LA SANTÉ EN RECHERCHE COMPORTEMENTALE ET COGNITIVE : FOCUS SUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

---

## Auteur

---

TOMASEK Maëlan

## Résumé

---

S'assurer d'une bonne santé des animaux est primordial pour les laboratoires de recherche et répond à un triple enjeu éthique, réglementaire et scientifique. Ce dernier enjeu scientifique est très important pour la recherche comportementale et cognitive pour qui la validité expérimentale se base sur l'expression de comportements naturels et non pathologiques. La perception sociétale en double teinte des poissons, céphalopodes et décapodes, qui sont les trois groupes d'étude de ce travail, est à la racine de nombreuses problématiques concernant la santé de ces espèces utilisées à des fins scientifiques. En effet, les connaissances sont en cours de développement, les législations et les recommandations pratiques sont souvent non adaptées car trop générales voire absentes, et les professionnels de laboratoire sont confrontés à une diversité d'espèces qui possèdent chacune leurs particularités. Pour explorer comment les professionnels font face à ces difficultés en pratique, nous avons procédé à des interviews de chercheurs, vétérinaires, soigneurs animaliers et techniciens européens, qui travaillent quotidiennement aux côtés de ces animaux. La diversité des profils, des niveaux de connaissances et des besoins entraîne une diversité d'organisation des structures et des problématiques. La communication et l'harmonisation des pratiques, ainsi qu'un intérêt futur plus marqué pour les animaux aquatiques, notamment dans la profession vétérinaire, mèneront sans nul doute à une amélioration du bien-être et de la santé de ces espèces.

## Mots-clés

---

Cognition, Modèle animal, Vétérinaire, Organismes aquatiques, Validité expérimentale

## Jury

---

Président du jury : Pr **SERVIEN Elvire**

Directeur de thèse : Dr **GRÉZEL Delphine**

1er assesseur : Dr **GRÉZEL Delphine**

2ème assesseur : Dr **VIDAL Samuel**